UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1931-1932 — N° 211

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR

LE BACILLE COLI

en milieu marin

et chez quelques poissons marins

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Mention "PHARMACIE"

Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 4 Décembre 1931

PAR

Georges-François FLEURY

PHARMACIEN DE 1re CLASSE

Né à Guérigny (Nièvre), le 17 Mars 1891

Examinateurs de la Thèse :

MM. MANDOUL, professeur ..... *Président.*

DUPOUY, professeur ..... *Juges.*

R. SIGALAS, agrégé ..... *Juges.*

VITTE, agrégé .....

ARCACHON

IMPRIMERIE GRAPHICA

Rue de la Mairie

1931

UNIVERSITE DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1931-1932 — N° 211

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR

LE BACILLE COLI

en milieu marin

et chez quelques poissons marins

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Mention "PHARMACIE"

Présentée et soutenue publiquement le Vendredi 4 Décembre 1931

PAR

Georges-François FLEURY

PHARMACIEN DE 1re CLASSE

Né à Guérigny (Nièvre), le 17 Mars 1891

Examinateurs de la Thèse :

MM. MANDOUL, professeur ..... *Président.*

DUPOUY, professeur..... *Juges.*

R. SIGALAS, agrégé..... *Juges.*

VITTE, agrégé.....

ARCACHON

IMPRIMERIE GRAPHICA

Rue de la Mairie

1931

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS, *doyen*.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. POUSSON, MOURE, PRINCETEAU, W. DUBREUILH, RIVIÈRE, BARTHE, LE DANTEC, DENIGÈS, AUCHÉ.

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	MAURIAC, CASSAËT
Clinique chirurgicale	CHAVANNAZ, BÉGOUIN
Pathologie et thérapeutique générales	CARLES
Clinique d'accouchements	ANDÉRODIAS
Anatomie pathologique et microscopie clinique	SABRAZÈS
Anatomie	VILLEMIN
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL
Physiologie	PACHON
Hygiène	LEURET
Médecine légale et deontologie	LANDE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale	RÉCHOU
Chimie	CHELLE
Botanique et matière médicale	BEILLE
Pharmacie	DUPOUY
Zoologie et parasitologie	MANDOUL

	MM.
Médecine experimentale	DUPERIÉ
Clinique ophtalmologique	TEULIÈRES
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ROCHER
Clinique gynécologique	GUYOT
Clinique médicale des maladies des enfants	CRUCHET
Chimie biologique et médicale	DELAUNAY
Physique médicale et pharmaceutique	SIGALAS
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	PETGES
Clinique des maladies des voies urinaires	DUVERGEY
Clinique des maladies nerveuses et mentales	ABADIE
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT
Hydrologie thérapeutique et Climatologie	SELLIER

MM. MICHELEAU (Médecine générale), MURATET (Anatomie pathologique), GOLSE (Pharmacie), LACOSTE (Histologie).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Anatomie et embryologie	DUBECQ, DUFOUR
Parasitologie et sciences naturelles	R. SIGALAS.
Physiologie	FABRE.
Médecine générale	CREYX, AUBERTIN, DAMADE, PIÉCHAUD, DELMAS-MARSALET
Maladies mentales	PERRENS

	MM.
Chirurgie générale	PAPIN, JEANNENEY, CHARRIER, LOUBAT
Obstétrique	PERY, RIVIÈRE
Ophtalmologie	BEAUVIEUX
Dermatologie et syphiligraphie	JOULIA
Chimie générale, pharmacie et toxicologie	VITTE

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Clinique dentaire	CAVALIÉ
Médecine opératoire	PAPIN
Accouchements	RIVIÈRE
Ophtalmologie	CABANNES

	MM.
Puériculture	FAUGÈRE
Démonstrations et préparations pharmaceut.	GOLSE
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS

Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes ..... N...

Cours complémentaire annexe. - Prothèse et rééducation professionnelle .. GOURDON.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548422_0064

A LA MÉMOIRE VÉNÉRÉE DE MON PÈRE

MONSIEUR THÉOPHILE FLEURY

Ingénieur Principal
des Directions de Travaux de la Marine Nationale
Chevalier de la Légion d'Honneur
Médaille de l'Annam et du Tonkin

A MA MÈRE

A MA FEMME

A MON PETIT ROBERT

MEIS ET AMICIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ

RAYMOND SIGALAS

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine et de Pharmacie
Chargé du cours de Zoologie
Chef des Travaux de Zoologie et de Parasitologie
Directeur du Laboratoire Maritime de l'Ecole des Hautes Etudes
Directeur de la Station Biologique d'Arcachon
Chevalier de la Légion d'Honneur
Croix de Guerre
Officier d'Académie

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR H. MANDOUL

Professeur de Zoologie et de Parasitologie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie
Docteur ès Sciences
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier de l'Instruction Publique
Commandeur du Nichan-Iftikar

AVANT PROPOS

En 1921, muni du diplôme de pharmacien de 1re classe, nous quittions la Faculté de Pharmacie de Paris pour venir à Arcachon.

Nous emportions et nous avons gardé de nos années de scolarité à la Faculté, un sentiment de respectueuse admiration pour l'enseignement éclairé et toujours bienveillant de maîtres éminents, dont quelques-uns sont la gloire de la science française.

Dix ans sont passés.

Nous avons l'avantage d'exercer la pharmacie à Arcachon. Mais Arcachon n'est pas seulement la ville aimable qui dans un cadre ravissant offre les séductions réunies de la mer et de la forêt, ni la ville à l'admirable climat si spécialement indiqué aux fatigués de toute nature, ni la ville des casinos où les baigneurs viennent s'amuser : c'est aussi la ville où écrivains, artistes et savants, peuvent trouver toutes les ressources susceptibles de les intéresser.

En particulier et d'où qu'ils viennent, les savants ou plus simplement les chercheurs dans le domaine des sciences expérimentales, ne sont pas dans notre ville perdus ou isolés : ils s'adressent à la Société Scientifique d'Arcachon.

Organisme combien précieux que cette Société Scientifique, reconnue d'ailleurs d'utilité publique, et qui a su créer la Station Biologique! Car c'est là, à la Station Biologique, que le chercheur trouvera tout ce qu'il peut souhaiter : des laboratoires vastes et clairs à l'outillage tout à fait récent, une bibliothèque scientifique riche et copieuse et... jusqu'au gîte!

Pour notre part, la Station Biologique d'Arcachon (qui dépend de l'Université de Bordeaux), nous a rendu les plus grands services. Elle nous a permis d'étudier dans les conditions les meilleures la destinée du bacille coli en milieu marin et aussi de pouvoir nous assurer que les poissons marins même vivant dans un milieu contaminé offraient un intestin vierge de bacille coli et parfois de toute flore bactérienne. Comment en effet trouver ailleurs et notamment dans un laboratoire de Faculté si merveilleusement adapté qu'il soit aux recherches bactériologiques ou zoologiques, comment trouver des bacs ou

bassins de 15 à 20 mètres cubes de capacité? Et comment, à sa guise, renouveler l'eau de mer?

Assurément, il y a, à la Station Biologique d'Arcachon tout un ensemble de facilités qu'il est malaisé de réaliser ailleurs.

Et ici un devoir s'impose qu'il nous est tout particulièrement agréable de remplir : c'est de remercier le Directeur de la Station Biologique d'Arcachon, M. le Docteur Sigalas, Professeur agrégé à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux. Il ne nous a jamais ménagé ses conseils empreints toujours de la plus cordiale bienveillance, nous a ouvert toutes grandes les portes des laboratoires marins, a mis à notre disposition le personnel et le matériel dont nous pouvions avoir besoin, et sans cesse nous a encouragé dans la voie des recherches que nous poursuivions.

Que M. le Professeur agrégé Raymond Sigalas veuille bien recevoir ici l'hommage de notre vive et affectueuse reconnaissance.

Nous nous devons aussi de remercier nos distingués confrères Messieurs Borde et Marcotte :

M. Borde, Docteur en Pharmacie, Inspecteur régional du contrôle sanitaire de l'Office des Pêches, qui veille soigneusement sur la salubrité des huîtres et rend au grand centre ostréïcole d'Arcachon des services constants et très appréciés : il nous a toujours accueilli et renseigné avec le plus amical empressement.

M. Marcotte, Docteur en Médecine, Pharmacien de 1re classe, ex-interne en pharmacie des hôpitaux de Paris, ancien sous-chef des services techniques d'hygiène de la ville de Paris, actuellement Directeur du Bureau d'Hygiène à Arcachon, pour qui les questions des bacilles coliformes n'ont pas de secrets : il nous a donné des suggestions intéressantes tout en nous autorisant très aimablement à utiliser les étuves à température constante (36° et 42°) du laboratoire municipal — et nous confessons avoir usé de cette permission maintes et maintes fois.

Nous n'aurions garde d'oublier son dévoué et précieux auxiliaire en la personne de M. Castéra, préparateur au laboratoire municipal, qui à excellente école et rompu aux manipulations bactériologiques, nous a souvent et spontanément apporté le secours de sa pratique journalière : bien sincèrement merci.

Mais notre reconnaissance va surtout à M. le Professeur Mandoul. Nous lui devons l'idée même qui détermina notre travail. C'est M. le Professeur Mandoul en effet qui nous fit part de son hypothèse selon laquelle les poissons marins ne vivant qu'en haute mer dans un milieu exempt de bacille coli ne sauraient présenter du bacille coli dans leur tube digestif. Cette opinion magistrale, qui allait à l'encontre de l'opinion classique, fut vérifiée expérimentalement, reconnue parfaitement exacte et complétée au cours de notre travail. Et avant d'aborder le chapitre du bacille coli et des poissons marins, c'est encore M. le Professeur Mandoul qui nous indiqua que pour éclairer la question et faire sur ce sujet toute la lumière désirable il y avait lieu d'étudier d'abord la destinée du bacille coli en milieu marin aussi bien dans l'espace que dans le temps.

Ainsi le but de nos recherches comme la méthode de notre travail étaient-ils clairement vus et définis par le maître qui dirigeait nos efforts et au laboratoire nous n'avions plus qu'à remplir scrupuleusement notre rôle d'exécutant. Nous disons exécutant car nous croyons savoir que dans l'esprit de M. le Professeur Mandoul notre thèse tout entière ne constitue qu'une petite partie et comme un chapitre d'un vaste travail d'ensemble que l'éminent microbiologiste a conçu sur le bacille coli, bacille qui dans son métabolisme comme dans son action et dans son existence même est resté à certains égards mystérieux.

Nous sommes particulièrement honorés du témoignage d'estime que M. le Professeur Mandoul a bien voulu nous donner en nous confiant un travail qui lui tenait à cœur, en nous exposant ses vues et en nous indiquant les directives à suivre. Au reste, toujours disposé à nous aider de ses judicieux conseils, c'est toujours avec plaisir qu'il nous a guidés dans nos recherches, qu'il nous a fourni une documentation bibliographique sûre et abondante, et c'est grâce à lui que nous avons pu mener à bonne fin le travail que nous avions entrepris.

Nous remercions de tout cœur M. le Professeur Mandoul en qui nous avons trouvé un savant à l'amabilité exquise qui fut pour nous le meilleur des maîtres. Et avec notre respectueux dévouement nous le prions de bien vouloir agréer l'expression de notre vive gratitude pour le grand honneur qu'il nous fait en acceptant la présidence de notre thèse.

PLAN DU TRAVAIL

CHAPITRE PREMIER. - **Recherche du bacille coli dans les eaux.**

I. — Méthode française.

II. — Méthode américaine.

III. — Méthode personnelle.

CHAPITRE II. — **Le Bacille coli en milieu marin.**

I. — Répartition.

II. — Destinée.

III. — Discussion des résultats d'expérience.

CHAPITRE III. — **Le bacille coli et les poissons marins.**

I. — Opinion classique et hypothèse de M. le Professeur Mandoul.

II. — Recherche du bacille coli dans le contenu intestinal des poissons marins : techniques et expérimentations.

III. — Discussion des résultats d'expérience.

CONCLUSIONS.

CHAPITRE PREMIER

Recherche du bacille coli dans les eaux

Généralités : Le bacille coli, découvert en 1884 par Escherich dans les selles d'un nouveau-né, est un microbe extrêmement répandu dans la nature. On le trouve dans l'air, dans l'eau, dans le sol, dans les produits alimentaires, notamment dans le lait. C'est un saprophyte constant du tube digestif chez l'homme et chez beaucoup d'animaux où il se multiplie tout particulièrement dans le colon (d'où son nom).

Examiné à l'état frais, il se présente le plus souvent au microscope sous forme d'un bâtonnet de 2 à 6 μ, bâtonnet nettement mobile dont la périphérie est pourvue de cils et les extrémités arrondies.

On constate qu'il se colore par toutes les couleurs d'aniline et qu'il ne prend pas le Gram.

I. — Culture

Le bacille coli est un bacille à grande vitalité, qui dans la nature résiste à toutes les intempéries. C'est ce qui explique qu'il pousse dans tous les milieux usuels et à toutes les températures de culture. Il est en outre à la fois aérobie et anaérobie

Parmi les différents milieux de culture qui se présentent à notre choix, nous avons tout d'abord adopté le milieu généralement admis en France, qui met à profit la propriété qu'a le bacille coli de vivre dans un milieu légèrement phéniqué à la température de 42°, ce qui du même coup élimine un grand nombre d'autres bactéries. Nous nous sommes arrêtés pour l'eau peptonée et l'eau peptonée phéniquée concentrée aux formules suivantes :

Eau peptonée

Peptone Chapoteaut	10 gr.
Sel marin	5 gr.
Eau peptonée	1 litre.

On fait dissoudre. On alcalinise très légèrement avec une solution de lessive de soude à 1 p. 100 avec du papier tournesol comme réactif. On filtre. On ramène au litre avec eau commune et on répartit en ballons de 125 et 250. On stérilise ensuite pendant 20 minutes à 120°.

Eau peptonée pheniquée concentrée

Peptone Chapoteaut	60 gr.
Sel marin	11 gr.
Eau ordinaire	1000 cc.
Solution acide phénique à 6 p. 100 ..	40 cc.

Alcaliniser avec lessive de soude à 1 p. 100.

Filtrer.

Dans une bassine, nous plaçons la peptone sèche, le sel marin, et l'eau. Nous portons à l'ébullition. Nous faisons bouillir pendant 20 minutes. On laisse refroidir. On ajoute alors 40 cc. de solution acide phénique à 6 p. 100, cette solution étant préparée par dissolution de 24 gr. d'acide phénique neigeux dans 400 gr. d'eau distillée (Notre eau peptonée pheniquée concentrée contient donc de ce fait 2 gr. 40 d'acide phénique par litre). On mélange. Puis on alcalinise très légèrement avec de la lessive de soude. Nous nous sommes servis de la solution suivante :

Lessive de soude	2 gr.
Eau distillée	200 gr.

Il est facile au moyen d'un agitateur et de papier tournesol rouge et bleu d'arriver à avoir, avec cette solution, un milieu neutre ou très légèrement alcalin. Ceci fait, on filtre sur papier dans un ballon et on complète à 1000 cc. avec de l'eau ordinaire.

Puis, par siphonnage au moyen d'un tube de verre recourbé dont l'extrémité hors du ballon est munie d'un court tube de caoutchouc portant une pince de Mohr, on mesure avec une éprouvette 50 cc. d'eau peptonée phéniquée concentrée que l'on verse dans des ballons. Et immédiatement — de crainte d'une culture qui pourrait commencer — on porte ces ballons à l'autoclave à 120° pour stérilisation.

Nous devons dire que dans ces préparations, nous avons tenu compte de l'observation de Molliex *Analyse bactériolo-*

gique des eaux potables... et que nous nous sommes assurés de la qualité de la peptone employée. Nous savons en effet, qu'entre autres microbes le bacille coli forme de l'indol aux dépens des peptones contenus dans les milieux de culture, l'indol résultant de la décomposition du tryphtophane des matières albuminoïdes. Or, « certains milieux donnent la réaction de l'indol à blanc, c'est-à-dire qu'ils renferment de l'indol préformé et donnent le virage en l'absence de toute culture ». Nous avons donc fait la réaction de l'indol selon l'enseignement de M. le Professeur Mandoul (*Enseignement de microbiologie du Professeur Mandoul.* Notes et techniques recueillies par R. Girard...) « avec deux tubes témoins; l'un qui n'aura pas été ensemencé, l'autre qui aura été ensemencé avec une culture connue de colibacille. Le premier tube indiquera si la peptone employée seule ne contient pas d'indol, le deuxième si cette peptone est capable de donner de l'indol en présence du colibacille ».

A ce sujet, la peptone sèche de Chapoteaut ainsi que la peptone médicinale de la Pharmacie Centrale, nous a toujours donné entière satisfaction.

Ainsi nous avons cultivé le bacille coli dans les milieux peptonés et peptonés phéniqués indiqués ci-dessus, étant entendu cependant que nous avons toujours dédoublé l'eau peptonée phéniquée concentrée. S'il s'agissait d'eau de mer, par exemple, et que nous estimions qu'elle devait être très pauvre en bacille coli du fait de l'endroit du prélèvement, nous mélangions à 50 cc. d'eau peptonée phéniquée concentrée 50 cc. d'eau de mer et nous mettions le tout à l'étuve à 42°. Si l'eau de mer était prélevée près du rivage, non loin des habitations, nous ensemencions 10 cc. par exemple sur 50 cc. d'eau peptonée phéniquée concentrée et nous complètions à 100 cc. en ajoutant 40 cc. d'eau de mer stérile ou 40 cc. d'eau distillée stérile.

De toute façon donc l'eau peptonée phéniquée concentrée était diluée de moitié et de ce fait le milieu cultivant à l'étuve contenait 1 gr. 20 d'acide phénique par litre. Cela n'est pas inutile à signaler car au cours de cet exposé sur les techniques de la recherche et de l'identification du bacille coli notre attention sera attirée sur la teneur des milieux en acide phénique.

II. — Identification

Pour situer immédiatement la question, citons cette phrase de M. le Professeur agrégé André Philibert : « L'espèce coli est une, mais elle présente suivant les conditions diverses dans lesquelles elle se trouve (saprophyte pathogène de l'homme et des animaux, milieux organiques et inorganiques) des variétés adaptives qui n'ont qu'une fixité temporaire et sont transformables les unes dans les autres ». (*Manuel de bactériologie médicale*... 1928).

Nous voyons donc d'abord que le bacille coli n'est pas un microbe nettement et clairement défini par une forme et des caractères fixes et immuables. En réalité, il n'y a pas un bacille coli mais il en existe plusieurs variétés, on pourrait dire plusieurs races qui se distinguent principalement par leur mobilité et leurs propriétés fermentatives. Il y a plus : suivant les milieux nouveaux où il est placé, le coli prend des formes adaptives nouvelles et on a pu identifier des coli immobiles (Jules Renault, Gilbert et Lion), des coli ayant perdu l'action sur le lactose, des coli ayant perdu le pouvoir indoligène, des coli faisant liquéfier la gélatine, etc. « Il n'est pas jusqu'à la production de capsule qu'on n'ait trouvé chez certains coli immobiles et que l'on n'ait pu faire apparaître expérimentalement dans des cultures de coli. » (*Manuel de bactériologie médicale*, André Philibert.)

Dans ces conditions et devant des caractères aussi nombreux et surtout aussi inconstants, il n'est pas surprenant que nous n'ayons pour le diagnostic du bacille coli que l'embarras du choix des procédés. Chaque auteur préconise les siens et chacun a d'excellentes raisons à faire valoir. Nous avons pensé qu'il fallait nous en tenir à la recherche d'un très petit nombre de caractères, mais nous avons choisi les caractères fondamentaux, ceux sur lesquels tous le monde est d'accord. Ces caractères qui en tant qu'essentiels ne sont contestés par personne et auxquels nous sommes restés obstinément fidèles sont les suivants :

1°) bâtonnet mobile;
2°) Gram négatif;
3°) formant indol sur milieu peptoné;
4°) faisant fermenter la gélose lactosée tournesolée avec dégagement de gaz;

5°) coagulant le lait et faisant de plus virer au bleu le lait tournesolé;

6°) faisant fermenter le bouillon glucosé avec dégagement de gaz.

Pour chacun de ces caractères, il y a lieu de donner quelques explications.

Mais tout d'abord plaçons-nous au point de départ.

Nous ensemençons sur eau peptonée, et si après 48 heures de séjour à l'étuve à 36° nous constatons un trouble nous ensemençons à nouveau sur eau peptonée phéniquée concentrée. Après 48 heures de séjour à l'étuve à 42° nous constatons soit un trouble si léger soit-il, soit un liquide parfaitement clair. Dans ce dernier cas, pas de bacille coli et il est une fois de plus démontré que l'acide phénique et la température de 42° sont des conditions dysgénésiques pour de nombreux germes banaux.

S'il y a trouble, nous commençons par faire l'examen microscopique :

1°) *Examen microscopique :* Une goutte de culture entre lame et lamelle, colorée avec une goutte de solution aqueuse d'éosine à 1/200e nous suffisent à voir la présence de bâtonnets et à discerner au bout de quelques instants leur mobilité.

2°) *Gram :* Puis nous faisons un Gram : coloration de la préparation par le violet de gentiane pendant 30 à 40 secondes, traiter sans laver par solution iodo-iodurée (Lugol), jusqu'à ce que le liquide devienne brun noir puis par l'alcool à 95° jusqu'à ce que le violet ne diffuse plus, laver rapidement à l'eau, puis pour recolorer le fond de la préparation, faire agir la solution d'éosine à 1/200e quelques secondes. Sécher.

Examinés à l'objectif à immersion, nous voyons si les bâtonnets sont colorés en violet. Si oui, les bâtonnets prennent le Gram et il est à présumer qu'il ne s'agit pas de bacilles coli Si non, si les bâtonnets sont colorés en rose, nous continuons à pousser notre investigation pour nous assurer que nous avons à faire à du bacille coli.

A ce sujet, nous devons dire que souvent nous avons vu à l'examen microscopique direct des bâtonnets longs et mobiles mais qui prenaient le Gram et qui ne répondaient d'ailleurs à

aucun des caractères énumérés plus haut. Il s'agissait de bacille subtil ainsi que nous avons pu le constater par son pouvoir de liquéfier la gélatine.

L'examen microscopique et le Gram étant faits nous passons à la réaction de l'indol.

3°) *Réaction de l'indol :* A 10 cc. de culture en eau peptonée phéniquée âgée de 48 heures au moins nous ajoutons 2 cc. du réactif suivant :

Solution nitrite de soude à 1/50e	2 cc.
HCl pur q. s. p.	200 cc.

Il se produit une coloration rose plus ou moins intense, caractéristique de l'indol. Quelquefois la réaction tarde à se produire ou est douteuse. Alors nous employons un autre réactif, extrêmement sensible, dû à Erlich et dont la composition est la suivante :

Paradiméthylamidobenzaldéhyde	2 gr.
Alcool à 95°	190 gr.
Acide chlorhydrique pur	40 cc.

A 10 cc. de la culture on ajoute 2 cc. de ce réactif puis 2 cc. d'une solution saturée de persulfate de potasse. On fait couler les réactifs le long de la paroi du tube en mélangeant le moins possible avec la culture : il se développe à la zone de séparation des liquides, une coloration rose due à la présence de l'indol. Cette méthode, suivant les auteurs, permettrait de caractériser l'indol dans des cultures de 2 heures et pourrait l'y déceler, pour une teneur de 1/5.000.000e. C'est dire sa sensibilité. D'autre part, il semble bien qu'elle soit spécifique de l'indol, car elle ne donne aucune coloration avec les composés voisins. Ainsi dans le cas de différentes espèces bactériennes donnant une réaction légère avec le réactif nitrite-acide chlorhydrique et rien avec celui d'Erlich la distillation a montré qu'il s'agissait de scatol.

Il nous est arrivé très souvent dans nos recherches de ne pas avoir la réaction de l'indol ni par le réactif nitrite de soude-acide chlorhydrique ni par le réactif d'Erlich alors qu'il s'agissait certainement de bacille coli, vu l'ensemble de ses autres caractères. Ce qui confirmerait cette opinion généralement admise qu'un bacille coli est d'autant moins indologène qu'il a davantage séjourné dans l'eau.

4°) *Fermentation de la gélose lactosée tournesolée:* Préparation de la gélose lactosée tournesolée que nous employons :

Peptone sèche Chapoteaut	20 gr.
Sel marin	5 gr.
Lactose	20 gr.
Gélose coupée	20 gr.
Teinture de tournesol	20 cc.
Eau ordinaire	1000 cc.

Dans une bassine on met eau, peptone, sel marin et lactose. On porte à l'ébullition. On fait bouillir 10 minutes. Puis on agite la gélose coupée en agitant. Et on continue à faire bouillir 10 minutes encore en agitant continuellement. On laisse refroidir. On alcalinise légèrement avec notre solution de lessive de soude. Puis on filtre sur papier Chardin dans un ballon. Il est prudent de mouiller au préalable le filtre avec une eau très chaude. Pour éviter la difficulté de la filtration, nous employons ce procédé, que nous donnons pour ce qu'il vaut, de placer filtre et ballon dans l'atmosphère encore chaude d'un autoclave. La filtration qui est toujours longue se fait alors bien plus facilement et bien plus vite.

La filtration faite, on ajoute la teinture de tournesol et on complète à 1000 cc. avec de l'eau très chaude. Puis on répartit directement en tubes droits par siphonnage trois travers de doigt (soit 7 centimètres environ), en ayant soin d'enfoncer la pointe du siphon très avant à l'intérieur du tube pour éviter le dépôt du milieu sur la paroi supérieure du tube à l'endroit où sera le bouchon de coton. Ces tubes bouchés au coton, où la gélose lactosée tournesolée se prendra vite en gelée, sont portés à l'étuve à 115° pendant 20 minutes.

Pour l'ensemencement, nous pratiquons par piqûres profondes. Nous mettons, à l'aide d'une pipette stérile 1/2 cc. environ de culture sur le milieu puis nous enfonçons le fil de platine à différentes reprises jusqu'au fond du tube tenu incliné.

On met à l'étuve à 42°. Le lendemain ou 48 heures après, si le résultat est positif, on voit de grosses bulles gazeuses très nettes, résultat de la fermentation, qui se font jour dans la masse gélatineuse et le milieu devient rose.

5°) *Coagulation du lait :* Nous prenons du lait frais que nous laissons 24 heures au frigidaire. Nous l'écrémons. Nous l'alca-

linisons légèrement par quelques gouttes de solution de carbonate de soude à 1/10e jusqu'à ce qu'il bleuisse légèrement le papier de tournesol. Nous répartissons en tubes. Nous stérilisons suivant le conseil de M. le Professeur Calmette (*Manuel technique de microbiologie et sérologie*, 1926), par 3 chauffages successifs de 30 minutes chacun à 100° et à 24 heures d'intervalle, car, « la stérilisation à 115° altère le lait en peptonisant la caséine et caramélisant le lactose » (Prof. Calmette).

Pour le lait tournesolé, que nous emploierons souvent, il suffit d'ajouter au lait légèrement alcalinisé de la teinture de tournesol en quantité suffisante pour donner une teinte nettement violette. Nous mettons 20 cc. de teinture de tournesol au litre.

6°) *Fermentation du bouillon glucosé :* Préparation du bouillon simple :

Eau	200 gr.
Sel marin	2 gr.
Peptone Chapoteaut	6 gr.
Glucose	4 gr.

On fait dissoudre. On filtre sur papier Chardin. On répartit en gros tubes à essai qui contiennent à l'aise un tube à hémolyse renversé (qui fera cloche). On stérilise. On fait en sorte : 1° de faire monter la température lentement; 2° de ne pas dépasser 120°. Pendant la stérilisation, le petit tube se remplit.

Au cas où la culture est positive, le gaz résultant de la fermentation se condense dans le fond de la cloche et la soulève.

Indépendamment de ces différents moyens d'identification, à chaque fois qu'un doute pouvait surgir du fait de l'absence d'un des caractères que nous vérifions, un ensemencement nouveau était fait sur gélose simple et avec la nouvelle culture d'autres ensemencements et de nouveaux examens étaient faits jusqu'à ce qu'une conviction basée uniquement sur les faits expérimentaux vienne s'imposer à notre esprit.

Préparation de la gélose simple :

Peptone Chapoteaut	20 gr.
Sel marin	5 gr.
Gélose	20 gr.
Eau commune	100 cc.

On fait dissoudre et bouillir 10 minutes. On alcalinise et on filtre sur filtre Chardin mouillé avec eau très chaude (là encore il y a intérêt à placer entonnoir et récipient dans l'atmosphère encore chaude d'un autoclave).

Répartir encore chaud en tubes droits. Stériliser à 115° pendant 20 minutes et incliner les tubes au sortir de l'autoclave et encore chauds.

III. — Numération

Après nous être assuré par une analyse bactériologique préalable de la présence du bacille coli dans l'eau de mer à l'endroit qui nous intéressait, nous opérions notre prélèvement en vue de la numération. Pour cela, nous nous servions de flacons en verre de 250 cc. de capacité, bouchés par un tampon de coton et dont le bouchon émeri complètement enveloppé de papier filtre était fixé par une ficelle au goulot : le tout avait été stérilisé à 170° au four Pasteur, ainsi que les pipettes totalement enveloppées, elles aussi, dans du papier filtre.

Le prélèvement fait avec les précautions aseptiques d'usage — il s'agit ici d'eau de surface — nous ensemencions immédiatement au moyen de pipettes stériles :

1°) (milieu A) : 10 cc. d'eau de mer que nous ajoutions à un premier ballon contenant 50 cc. de notre eau peptonée phéniquée concentrée et 40 cc. d'eau distillée stérile. Nous mélangions.

2°) (milieu B) : 1 cc. d'eau de mer que nous ajoutions à un deuxième ballon contenant 50 cc. d'eau peptonée phéniquée concentrée et 49 cc. d'eau distillée stérile. Nous mélangions.

Nous faisions séance tenante la répartition du milieu A en 10 tubes et du milieu B en 10 tubes. Nous étiquettions ces 2 séries et nous mettions à l'étuve à 42°.

Supposons que 48 heures après nous trouvions les 10 tubes A tous troubles et sur les 10 tubes B deux tubes seulement de troubles.

Comment interpréter ces résultats? Partant de cette hypothèse, vérifiée d'ailleurs expérimentalement dans l'immense majorité des cas, qu'une colonie est produite par un seul germe et qu'ici chaque tube donnant une réaction positive n'a reçu qu'un germe lors de la répartition, nous dirons que les

10 tubes A, tous troubles, indiquent qu'il y a au moins 1000 coli par litre, mais comme 2 tubes du milieu B ont donné une réaction positive, nous ne tiendrons plus compte du résultat du milieu A et nous dirons, toujours selon le même principe, que l'eau de mer examinée contient 2000 coli par litre.

Il nous est arrivé d'avoir à opérer des dilutions plus grandes. Nous avons dû prendre non pas un centimètre cube, mais dix gouttes, cinq gouttes, et même une goutte d'eau de mer pour ensemencement. Mais n'aurions-nous dû ensemencer qu'une fraction de goutte, soit une demi goutte ou un dixième de goutte (et cela ne comporte aucune difficulté puisque c'est une simple affaire de dilution) que cela n'aurait changé en rien le principe et notre manière de numération du bacille coli.

*
* *

En somme, pour cultiver, identifier et numérer le bacille coli tant dans l'eau de mer que dans la flore intestinale des poissons marins, nous nous sommes servis de la méthode bien connue de Vincent, tout au moins dans son principe, principe que nous pourrions exprimer en quelques mots comme suit : On fait l'ensemencement « dans un milieu sélectif où il (le bacille coli) prolifèrera plus vite que les autres germes. De cette culture primaire on prend une partie qu'on ensemence sur milieux solides, sur lesquels il sera facile d'isoler le germe qui s'y est développé de préférence ». (Sur la recherche du bacille coli dans les eaux par F. Diénert et P. Etrillard. *Annales de l'Institut Pasteur*, mars 1931.)

Mais une question s'est posée à notre esprit.

Est-ce que du fait de sa teneur en chlorures, notamment en chlorure de sodium, l'eau de mer ne se rapprocherait-elle pas d'une eau stérilisée par un antiseptique?

Ecoutons M. Giard : « En ce qui concerne l'action chimique des sels marins, on sait les énergiques propriétés assainissantes des chlorures alcalins et surtout du chlorure de sodium. On l'emploie en tout lieu pour la conservation des viandes et du poisson. Son action sur les plaies, ulcères, etc., est connue de tous. Il s'oppose avec une grande énergie à la putréfaction. Des travaux récents ont établi que le serum sanguin lui devait en partie ses propriétés bactéricides. Certains expérimentateurs ont étendu aux solutions salines cette propriété. Les

injections salines dans les veines de solution de chlorure de sodium à 7 p. 100, outre qu'elles ont le pouvoir de restituer au sang un de ses éléments essentiels, lui rendent aussi la composition qui lui permet d'opposer une résistance énergique à l'envahissement des microbes. La composition de l'eau de mer nous autorise à l'assimiler à un sérum intensif ».

N'avons-nous pas aujourd'hui le sérum de Quinton?

Et plus loin il ajoute : « Ceci nous amène à examiner l'action de l'eau de mer sur les microbes. Ici les résultats acquis au laboratoire sont d'accord avec les constatations empiriques. Giaxa, Klein, Sabatier, Ducamp et Petit, Frankland et Ward, W. Herdmann et Boyce, Krauss, ont reconnu que l'eau salée était un très mauvais milieu de culture pour les microbes. Particulièrement le bacille d'Eberth, d'après ces expérimentateurs, ne se multiplie pas dans les eaux de mer et finit par disparaître au bout de peu de jours. Frankland et Ward ont montré que, mêlé dans une solution artificielle à 3 p. 100, les bacilles ne se développent point et disparaissent totalement vers le dix-huitième jour ». (Sur la prétendue nocivité des huîtres, par A. Giard, membre de l'Institut, professeur à la Faculté des Sciences de Paris, *Revue d'hygiène et de police sanitaire*, tome XXVI, du 20 août 1904.)

Dès lors, si comme nous nous croyons autorisés à le faire, nous considérons le milieu marin comme défavorable à la culture des microbes pathogènes et du bacille coli, du fait de sa composition chimique, il semble bien que nous puissions assimiler l'eau de mer du point de vue de la recherche du bacille coli à une eau stérilisée par l'ozone, l'iode, le permanganate de potasse, le chlore gazeux, les hypochlorites ou autres antiseptiques.

Or, d'après quelques bactériologistes, dans ces eaux devenues potables par stérilisation du fait d'antiseptique, la méthode classique de Vincent présenterait pour la recherche et l'identification du coli des inconvénients sérieux.

En particulier, MM. Diénert et Etrillard ont apporté à cette méthode certaines critiques. Ils disent que si elle est commode et rapide, elle n'est pas exempte de cause d'erreur. Ils mettent en cause l'acide phénique. Ils notent en effet :

1°) que l'acide phénique a un pouvoir inhibiteur très marqué. Certains germes de bacille coli, surtout ceux qui ont

séjourné un certain temps dans l'eau, cultiveraient mal ou pas du tout en milieu phéniqué.

2°) que sur les milieux phéniqués « certaines espèces cultivent mieux et plus vite que le bacille coli de telle sorte qu'au bout de 48 heures le bacille coli étouffé par cette espèce, ne peut être isolé du liquide de culture ». Et ils ajoutent, ce qui est grave : « Il est toujours difficile d'annihiler la concurrence vitale et *nous avons maintes fois obtenu des résultats négatifs pour le bacille coli avec des eaux manifestement contaminées* ».

A ce sujet, MM. Diénert et Etrillard font cette concession cependant, qu'avec un milieu plus phéniqué que 1 p. 1.000 les germes susceptibles d'empêcher la culture du bacille coli ne peuvent plus pousser et le coli reprend le dessus. C'est d'ailleurs la raison la plus importante qui nous a déterminés à choisir comme teneur en acide phénique 1,20 p. 1.000 bien que généralement on emploie 0,75 p. 1.000 (milieu de Chantemesse, Vincent, etc.), et quelquefois 1 p. 1.000 (milieu de Diénert, Péré, etc.).

Il n'en reste pas moins que la première critique de MM. Diénert et Etrillard garde pour nous toute sa valeur.

En milieu phéniqué, êtes-vous sûrs, disent MM. Diénert et Etrillard, que les bacilles coli ne sont pas endormis et inertes? Et dans ces conditions, quand vous prétendez qu'une eau est stérilisée parce que vous n'y trouvez pas de coli, êtes-vous bien certain de ne pas vous trouver en présence de coli non tués mais seulement en sommeil? Et qui vous dit que ces coli, dans un milieu plus favorable à leur existence, notamment dans l'intestin, ne se réveilleront pas.

Certes, ces arguments sont à retenir. Et s'ils sont à considérer dans le contrôle de la stérilisation des eaux potables, ils n'en sont pas moins intéressants dans la recherche du bacille coli dans l'eau de mer.

Il faut donc opérer et c'est la conclusion de MM. Diénert et Etrillard sur un milieu autre que le bouillon phéniqué.

Que faut-il choisir? MM. Diénert et Etrillard recommandent le milieu de Teague, préconisé en Amérique par Max Lévine. Ils nous en donnent la formule et ils nous exposent comment on recherche le bacille coli dans l'eau à l'aide de cette méthode.

La composition de ce milieu est la suivante :

Eau distillée	1000 cc.
Peptone Difco	10 gr.
Phosphate dipotassique	2 gr.
Gélose	15 gr.

Au moment de l'usage, pour 100 cc. de cette gélose, on ajoute :

Lactose à 20 p. 100 (en solution stérile).	5 cc.
Eosine à 2 p. 100	2 cc.
Bleu de méthylène à 0,5 p. 100	2 cc.

On coule en en boîtes de Pétri à raison de 25 cc. de gélose par boîte.

Technique : « On concentre les germes de l'eau à l'aide d'un coagulant qui est de l'alumine neutre avec 70 p. 100 d'eau préparée par voie humide et stérile contenue dans une fiole, et qu'on introduira dans l'eau à raison de 20 cc. de cette suspension d'alumine pour 1.000 cc. d'eau. On agite énergiquement l'eau additionnée d'alumine et on laisse déposer dans un endroit frais pendant deux heures. Ceci fait, on soutire avec un siphon stérile le liquide surnageant le précipité et on centrifuge ce dernier à la centrifugeuse à eau. On a ainsi dans un tube un culot d'alumine contenant 90 à 95 p. 100 des germes de bacille coli contenus dans 1.000 cc. qu'on sépare de l'eau surnageante. Ce culot d'alumine est alors mélangé à la température de 30° avec 22 cc. d'un mélange de 1/3 de gélose de Teague. On agite bien le tout et on répand ce mélange sur les plaques de Pétri, contenant déjà 25 cc. de gélose de Teague, stérile et solidifiée, à raison de 2 cc. par plaque.»

On place ce milieu ainsi ensemencé à la température de 37° et au bout de 24 heures et de 48 heures, on observe les plaques de Pétri. MM. Diénert et Etrillard donnent sur l'aspect et les caractères des colonies de bacilles coli sur ce milieu tous éclaircissements désirables :

« Sur cette gélose, le bacille coli donne des colonies de 2 à 3 millimètres de diamètre qui, vues par transparence, ont un centre bleu sombre, presque noir, couvrant plus des trois quarts de la colonie. La structure interne de la portion centrale est difficile à discerner. Par réflexion, on observe, au centre, une sorte de bouton surélevé bleu noirâtre, entouré d'une rigole

circulaire. La partie périphérique de la colonie prend l'aspect gris métallique ».

« Après 24 heures d'incubation à 37°, on notera et comptera les colonies présentant avec netteté les caractères que nous venons d'indiquer et l'on répétera ce comptage après 48 heures. Si l'on a des doutes, on prélèvera quelques colonies aux fins d'identification ».

Et MM. Diénert et Etrillard concluent : « Par cette méthode, dans 5 cc. d'eau de Seine brute, nous avons compté et identifié 13 colonies de bacilles coli, tandis que le même volume d'eau ensemencé sur bouillon de levure phéniqué à 1/1.000e a accusé la présence de 2 bacilles coli seulement ».

Assurément la méthode est séduisante. Dès sa parution, en octobre 1929, dans les Annales de l'Institut Pasteur (t. XLVII, 1929), sous la signature de MM. Diénert et Etrillard, elle a retenu en France l'attention des bactériologistes s'occupant plus spécialement de la question des eaux potables. Nous la retrouvons exposée dans l'Annuaire du service technique d'hygiène de la ville de Paris (Service de la surveillance des eaux d'alimentation), l'année suivante. En mars 1931, nous la voyons à nouveau rappelée dans les Annales de l'Institut Pasteur. En avril 1931, dans la Revue d'Hygiène et de Médecine préventive, MM. Dujarric de la Rivière et T.-H. Chu nous parlent, entre autres méthodes de recherche du bacille coli, de la gélose et du procédé de Teague-Levine qu'ils jugent fort intéressants. Par ailleurs, nous savons qu'au début de la présente année, la direction centrale de l'Office des Pêches a porté cette méthode à la connaissance de ses inspecteurs régionaux chargés de veiller sur la salubrité des huîtres et de surveiller bactériologiquement l'eau de mer dans laquelle elles vivent

C'est dire que la méthode préconisée par MM. Diénert et Etrillard n'est pas considérée, il s'en faut, comme négligeable. Ses avantages sont en effet indéniables : d'abord, elle supprime l'acide phénique et son pouvoir inhibiteur. Ensuite la culture se fait à faible température. La cause d'erreur due à la concurrence vitale est annihilée puisque le bacille coli cultive sur un milieu solide et en colonie de forme et de couleur caractéristiques. En outre, la recherche et la numération du bacille coli contenu dans un grand volume d'eau se fait directement. Au total, cette méthode satisfait l'esprit et on s'explique que

dans certains pays (Amérique, Angleterre, etc.), elle soit chez les bactériologistes en honneur et vigueur.

Nous avons réalisé le milieu et la méthode de MM. Diénert et Etrillard et nous avons recherché, cultivé et numéré le bacille coli dans l'eau de mer par cette méthode en même temps que sur la même eau nous faisions nos recherches habituelles du coli selon la technique que nous avons exposée de bout en bout. (A noter toutefois que dans le milieu de Teague, nous avons remplacé la peptone Difco par la peptone de la Pharmacie Centrale de France pour cette unique raison que les différents fournisseurs auxquels nous nous sommes adressés pour nous procurer la peptone Difco n'ont pu nous en livrer.)

Les deux méthodes se différencient-elles quant aux résultats? Et la méthode recommandée par MM. Diénert et Etrillard est-elle mieux adaptée à notre genre de recherches que la méthode de Vincent?

A notre avis, il est très probable que la méthode de MM. Diénert et Etrillard donne des résultats plus sûrs et plus constants A la vérité cependant les résultats que nous avons obtenus concuremment par les deux méthodes ont été identiques pour la recherche du bacille coli et se sont rapprochés beaucoup pour la numération. De telle sorte que si nous avions à choisir nous préférerions, en dernière analyse, la méthode de Vincent parce que plus pratique, plus commode, plus rapide à réaliser. N'est-ce pas au fond l'avis de MM. Diénert et Etrillard eux-mêmes lorsqu'ils écrivent :

« La méthode française, qui utilise l'emploi de l'acide phénique, malgré ses inconvénients, donne des résultats satisfaisants si on exige qu'une eau potable ne renferme aucun germe de bacille coli communis d'origine fécale. Elle nous paraît préférable aux méthodes américaines et anglaises ». (Sur la recherche du bacille coli dans les eaux, *Annales de l'Institut Pasteur*, mars 1931.)

*
* *

Il n'en est pas moins vrai que nous avons été impressionnés par les avantages que l'on peut retirer de la culture du bacille coli en utilisant les milieux solides. Il est bien certain que la recherche et la numération du bacille coli en milieu liquide

présentent certains aléas qu'elle ne connaît pas en milieu solide : car là, et là seulement en effet, les divers germes ensemencés sont isolés et peuvent pousser séparément à l'abri de toute concurrence vitale.

Mais il nous a paru, à l'étude, que le milieu et la méthode que nous ont fait connaître MM. Diénert et Etrillard étaient susceptibles d'amélioration. Cette méthode présente, selon nous, deux inconvénients.

1°) Elle est complexe à mettre en œuvre .Elle exige notamment une manipulation préalable: celle de concentrer sous un petit volume les microbes de l'eau au moyen d'alumine gélatineuse. Nous savons qu'on obtient assez facilement de l'alumine gélatineuse en précipitant le sulfate d'alumine par l'ammoniaque et en lavant soigneusement le précipité pour éliminer totalement l'ammoniaque. Incontestablement, il y a là une complication.

2°) En admettant que la concentration à l'aide du coagulant ait été opérée d'une façon convenable, on n'obtient pas la totalité du bacille coli contenu dans le volume d'eau utilisé : 90 p. 100 environ, ce qui est déjà, hâtons-nous de le dire, d'une approximation suffisante.

Nous avons donc tout d'abord borné notre ambition à simplifier cette technique. Puis, au cours de nos recherches, nous avons été amenés à nous poser un problème, celui de réaliser un procédé qui offre :

1°) ensemencement direct de l'eau à examiner;

2°) culture sur milieu solide et qui satisfasse à deux conditions :

a) que tous les germes ensemencés soient isolés sur le milieu et puissent se développer isolément (d'où pas de concurrence vitale) ;

b) que les colonies de bacille coli soient faciles à différencier des autres espèces ;

3°) pas de substance antiseptique dont on peut craindre l'action inhibitrice;

4°) une culture à basse température. Car si on a pu cultiver à 45°, et même si certains bactériologistes ont préconisé la culture à 46° pour le bacille coli dans le but de diminuer la concurrence vitale, nous pensons avec MM. Diénert et Etrillard que cette température élevée

peut avoir, elle aussi, une action franchement inhibitrice qui s'apparente d'ailleurs, en l'espèce, à l'action des antiseptiques.

Pour trouver une solution à notre problème nous nous sommes inspirés à la fois du milieu de Teague modifié comme nous l'ont indiqué MM. Diénert et Etrillard et tel que nous l'avons exposé, et du milieu de Schmitz (gélose-sérum rouge congo), modifié et simplifié d'une façon particulièrement heureuse par Chandelier.

Chandelier « emploie du bouillon gélosé ordinaire (à 3 p. 100 de gélose), lactosé à 1,5 p. 100 exactement, neutralisé au tournesol, réparti en ballons de 100 cc. et stérilisé à 115°.

A 100 cc. de ce milieu, préalablement fondu au bain-marie à 50 cc., on ajoute :

Sol. de soude 0 gr. 5 p. 100 stérilisée... 10 cc.

Puis :

Sol. aqueuse stérilisée de rouge Congo à 3 p. 100 ..... 10 cc.

Puis on coule en grandes boîtes de Pétri stériles dont le couvercle est garni d'une rondelle de papier filtre, sur lequel s'effectuera la condensation de la vapeur d'eau dégagée pendant la solidification de la gélose. On ensemence ensuite et on porte à l'étuve.

Les colonies typhiques sont apparentes au bout de 24 heures, sous l'aspect de petites masses aplaties sèches, écailleuses, cupuliformes et de couleur rouge foncé, les colonies de bacilles coli se détachant en bleu foncé sur le fond rouge. (*Manuel technique de microbiologie*, par MM. le Professeur Calmette, Nègre et Boquet). Et ces derniers ajoutent : « Ce milieu est, avec celui de Lôffler-Schuster, le plus recommandable pour l'isolement du bacille typhique. C'est incontestablement celui qui, en l'état actuel de nos connaissances, fournit les meilleurs résultats. »

*
* *

Nous avons pensé à préparer un mélange de gélose et de gélatine en proportion telle que ce mélange soit liquide à la température de 42° et solide à la température de 30°.

Ainsi concevions-nous la possibilité d'ensemencer directement l'eau à examiner sur un milieu *momentanément* liquide qui, dès l'ensemencement fait, se solidifiant très rapidement, c'est-à-dire en quelques instants, permettrait une culture en milieu solide.

Par tâtonnements et après des essais répétés nous nous sommes arrêtés à 10 de gélose pour 100 de gélatine et la première formule de notre milieu était la suivante :

Peptone	30 gr.
Sel marin	5 gr.
Lactose	15 gr.
Gélose	10 gr.
Gélatine	100 gr.
Eau distillée	1000 cc.

Dans une bassine nous mettions la peptone, le sel marin, le lactose et l'eau. Nous chauffions jusqu'à une température voisine de l'ébullition. Nous ajoutions alors d'abord la gélose coupée en petits morceaux, puis après agitation et dissolution, la gélatine coupée ausi en petits morceaux. La dissolution faite et après refroidissement, nous neutralisions au papier tournesol et nous ramenions au volume de 1.000 cc. avec de l'eau distillée. Nous répartissions alors en plaques de Roux à raison de 15 cc. par plaque et nous stérilisions à 115° pendant 20 minutes. Après refroidissement nous obtenions dans les plaques de Roux un milieu solide de 2 centimètres environ de hauteur. au moment du besoin nous ajoutions après liquéfaction au bain-marie à 42° environ et aseptiquement 1 cc. 5 de solution de lessive de soude stérile préparée en dissolvant 1/2 cc. de lessive de soude dite lessive des savonniers dans 100 cc. d'eau, 1 cc. 5 de solution stérile de rouge Congo à 2 p. 100, puis l'eau de mer à examiner, soit 1 cc. Nous mélangions soigneusement sans trop agiter pour éviter les bulles d'air. Puis nous laissions solidifier horizontalement.

Tel quel, ce milieu, à cause sans doute des 3 cc. de liquide que nous ajoutions au moment de nous en servir, avait tendance à 30° à se liquéfier. Nous l'abandonnions alors à la température ambiante qui dans le laboratoire exposé en plein soleil oscillait dans les 24 heures entre 19° et 27° (car toutes les expériences sur le milieu que nous indiquions ici ont été faites en été).

Après 60 heures, ou 3 jours au plus, à ces températures où notre milieu ne cessait de rester parfaitement solide, les colonies de bacilles coli apparaisaient très nettement à la loupe en taches d'un beau bleu clair sur le fond rouge. Un œil exercé pouvait même très bien distinguer ces colonies au bout des trois jours sans le secours d'une loupe.

Nous avons cultivé à différentes reprises sur ce milieu une eau dans laquelle nous venions d'ensemencer à la fois du bacille d'Eberth et du bacille coli. (Nous avions à notre disposition des cultures pures de bacilles coli et des cultures pures de bacilles d'Eberth). Nous avons toujours vu soit au bout de 60 heures, soit au bout de 3 jours au plus les colonies de bacilles coli en bleu clair et les colonies de bacilles typhiques en rouge foncé se détachant très nettement vues à la loupe, mais qui, elles aussi, sont très visibles à l'œil nu pour peu qu'il soit exercé.

La numération suivant le procédé courant qu'on emploie sur culture sur gélatine était toujours d'une facilité extrême. Au bout d'une huitaine de jours, si les colonies sont peu nombreuses, on les compte une à une sur toute la plaque après avoir divisé la plaque en secteurs égaux par des traits au crayon gras. Si les colonies sont très nombreuses, on compte les germes de deux secteurs sensiblement aussi riches en bacilles. On fait la moyenne de deux numérations, on multiplie le chiffre par le nombre des secteurs et on rapporte la numération au centimètre cube qui est toujours pris comme unité.

Ce milieu que nous avons conçu et réalisé, bien que nous donnant les résultats que nous en avions espérés, ne nous donnait pas entière satisfaction. D'abord son homogénéité laissait à désirer. Ensuite le milieu ne restant solide qu'à une température relativement basse, la culture se faisait à cette basse température, et nous pensions que de ce fait elle se faisait trop lentement. Cherchant donc d'une part à nous rapprocher davantage d'une température optimum de culture et d'autre part cherchant à réaliser un milieu parfaitement homogène, l'expérience nous a conduits à modifier légèrement à la fois notre milieu et notre technique. Voici donc ci-dessous comment nous présenterons le résultat de notre travail personnel en vue de la recherche, de l'identification, et de la numération du bacille coli.

Formule de notre milieu et technique personnelle :

Peptone	30 gr.
Sel marin	5 gr.
Lactose	15 gr.
Gélose	15 gr.
Gélatine	60 gr.
Eau de source	900 cc.

Après dissolution et neutralisation, clarifier au blanc d'œuf, filtrer, ramener à 900 cc.

Ajouter solution filtrée contenant :

Rouge Congo	2 gr.
Lessive de soude, dite des savonniers..	1/2 cc.
Eau distillée	100 cc.

Mélanger. Répartir en boîtes de Roux à raison de 15 cc. par boîte. Stériliser à 105° pendant une demi-heure.

Au moment du besoin, faire liquéfier au bain-marie à 42° environ. Ensemencer aseptiquement avec une pipette stérile l'eau à examiner, 1 cc. par exemple. Mélanger. Laisser solidifier horizontalement. Mettre à l'étude à 30°. Au bout de 24 heures, de 48 heures, ou si l'on veut de 60 heures, voir les colonies.

Les colonies de bacilles coli apparaissent très nettement et joliment sous forme de taches d'un beau bleu clair sur fond rouge. Les colonies de bacille typhique se détachent, elles aussi, très nettement en rouge foncé, mais sont beaucoup plus petites que celles du bacille coli.

Se servir d'une loupe pour plus de sûreté.

Nota : Si l'on pense que l'eau à examiner doit être très pauvre en bacille coli, on ensemencera 10 cc. sur 150 cc. de notre milieu stérilisé, momentanément liquéfié, et contenu dans un ballon. Après mélange, on coulera immédiatement en boîtes de Pétri préalablement stérilisées (en 10 boîtes si on a à sa disposition que des petites boîtes de 9 centimètres de diamètre).

On peut aussi centrifuger longuement 50 cc. d'eau dans un tube centrifugeur effilé à sa partie inférieure, gradué et préalablement stérilisé avec une coiffe de papier filtre. La centifugation opérée, on soutirera au moyen d'un siphon stérile la partie supérieure de l'eau jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un volume de liquide compris entre deux et un centimètre cube. Pour ensemencer, on versera aseptiquement 15 à 20 cc. de notre

milieu liquéfié dans le tube centrifugeur. On mélangera énergiquement par agitation, le tube étant bouché par une rondelle de caoutchouc stérile maintenue par le pouce et on coulera le tout immédiatement en boîte de Pétri. (Centrifuger simultanément dans 2 ou 4 tubes : ainsi la recherche portera-t-elle sur 100 ou 200 cc. de la même prise d'eau).

Si l'eau est très chargée de matières minérales, notamment d'aluminium et de fer à l'état d'oxydes ou d'hydrates, avant de centrifuger, on filtrera sur filtre papier stérilisé pour se débarrasser de la plus grande partie de ces substances en suspension, cette simple filtration ne pouvant modifier la flore bactérienne.

Il va sans dire que ce dernier cas ne se présente jamais dans l'eau de mer. Nous ne signalons le fait que pour montrer que notre technique a une valeur générale.

Nous avons parlé plus haut du bacille d'Eberth. Nous tenons à dire que c'est tout à fait incidemment, car l'étude du bacille d'Eberth ne rentre à aucun degré dans le cadre du modeste travail que nous nous sommes tracé. Toutefois, vu l'intérêt qu'il peut y avoir éventuellement à cultiver simultanément le bacille coli et le bacille typhique nous avons cru devoir nous assurer si la différenciation sur notre milieu pouvait s'opérer aisément et nous avons eu la satisfaction de constater qu'elle se faisait admirablement : colonies de bacilles coli en bleu clair, colonies de bacilles typhiques en rouge foncé.

Nous devons signaler aussi que nous nous sommes servis de plaques de Roux et non de boîtes de Pétri pour les examens d'eau parce que dans ces dernières il est très difficile, sinon impossible, de mélanger convenablement l'eau à analyser avec le milieu dont nous nous servons. Il est bien entendu, toutefois, que notre milieu, à raison de 15 cc. par boîte de Pétri, et en ayant soin de garnir intérieurement le couvercle de la boîte d'une rondelle de papier filtre, constitue un milieu solide particulièrement favorable pour l'ensemencement en stries, et qui, soit dit en passant, semble même spécialement désigné pour la recherche et, le cas échéant, la numération des bacilles coli et typhiques dans les matières fécales.

Signalons enfin, et cela est très important, que sur notre milieu tous les germes de l'eau cultivent. Ainsi pouvons-nous faire directement et du même coup, non seulement la numération du bacille coli, mais la numération des autres colonies.

Ainsi et pour conclure :

1°) La méthode de Vincent qui est la méthode classique en France, offre les inconvénients suivants :

a) milieu liquide:
b) présence d'un antiseptique;
c) culture à température élevée.

2°) La méthode de MM. Diénert et Etrillard, modification de la méthode américaine de Teague, a aussi ses inconvénients :

a) complexité et difficulté de la mise en œuvre de la méthode;
b) ensemencement d'un culot d'alumine ne pouvant contenir la totalité des bacilles coli du volume d'eau utilisé.

3°) Le milieu de Chandelier excellent et même tout à fait remarquable par ailleurs ne peut se prêter à la recherche directe du bacille coli dans une eau.

4°) Notre milieu offre les avantages suivants :

a) milieu solide;
b) absence de tout antiseptique;
c) culture à basse température.

Ajoutons que notre milieu, qui se présente d'une façon parfaitement homogène, nous a toujours donné satisfaction puisque toujours en concordance, quant à la recherche et à la numération du bacille coli, avec les deux méthodes : la méthode française en milieu liquide et phéniqué, et la méthode américaine en milieu solide et sans antiseptique. A ce sujet, notons en passant que l'expérience nous a montré maintes et maintes fois que les méthodes françaises et américaines donnent des résultats identiques pour la seule recherche du bacille coli et, pour sa numération, des résultats sensiblement égaux. Il n'en reste pas moins que *notre méthode s'affirme comme préférable, puisqu'en outre elle permet de cultiver, de différencier et de numérer les divers germes d'une eau ensemencée directement sur un milieu n'ayant aucun pouvoir inhibiteur.*

CHAPITRE II.

Le Bacille Coli en Milieu Marin

Nous savons qu'au grand large, soit en surface, soit en profondeur, l'eau de mer ne présente pas de bacille coli. Nous l'avons vérifié une fois de plus sur de l'eau de surface prélevée à 30 milles au large d'Hourtin, sur le lieu même de la pêche où des poissons étaient pris à notre intention. Non seulement par les différentes méthodes que nous avons exposées au chapitre précédent, nous n'avons pas trouvé de bacille coli, mais ayant recherché, à titre documentaire, s'il n'y avait pas d'autres bacilles, nous n'avons pu que constater l'absence de toute flore microbienne : l'eau de mer que nous examinions était bactériologiquement pure. Cela confirme des expériences extrêmement nombreuses, et il n'y a là rien d'étonnant.

Mais trouve-t-on du bacille coli dans l'eau de mer près des côtes? En trouve-t-on tout le long? N'y a-t-il pas lieu de distinguer entre les côtes désertes et les côtes peuplées? Et sur les côtes qui portent des agglomérations et où vivent bêtes et gens trouve-t-on le bacille coli dans l'eau de mer d'une façon constante? Quand il y a du bacille coli près d'une côte, puisque nous savons qu'il n'en existe pas au large, peut-on déterminer la distance de la côte où le bacille coli cesse d'exister? Autrement dit peut-on en quelque sorte délimiter la frontière marine que le bacille coli ne saurait franchir?

Autant de questions auxquelles nous répondrons non par des mots, mais par des faits. Et de ces faits nous essayerons de dégager les conclusions qui s'imposent tant sur l'origine du bacille coli dans l'eau de mer que sur les influences de natures diverses et variées qu'il subit en milieu marin.

Voyons les faits : Deux grandes séries d'expériences ont été faites :

1°) Une première série ayant pour objet de nous rendre compte si l'eau de mer présente des bacilles coli partout et toujours le long des côtes, qu'elles soient ou non peuplées. Cette série d'expériences a porté d'une façon quasi ininterrompue

depuis le fond du port de La Teste-de-Buch jusque devant la dune du Sablonney, soit sur une longueur d'environ 18 kilomètres. (Voir la carte côtière.) Nous avons fait plus de 200 prélèvements (207 exactement) d'eau de mer dans des conditions marines et atmosphériques différentes. Chaque prélèvement a été soigneusement examiné.

2°) Une deuxième série d'expériences avait pour but de constater à quelle distance de la côte on pouvait encore trouver du bacille coli lorsque l'eau de mer en présentait sur le rivage. Cela nous a conduit à prospecter la plus grande partie du bassin d'Arcachon et il nous aurait été facile, ces travaux effectués, de continuer nos recherches vers l'est en vue de dresser une véritable et complète répartition du bacille coli dans le bassin d'Arcachon tout entier.

Mais cela n'apportait rien de plus, ni comme valeur, ni comme argumentation, à ce que nous entendons montrer ici et nous nous en sommes tenus aux 1350 prélèvements qui, effectués aux endroits et dans les conditions que nous indiquerons plus loin, nous ont donné des résultats d'où nous croyons pouvoir tirer les indications que nous cherchons.

Voyons d'abord la première série d'expériences qui ont été faites le long de la côte.

I. — Y a-t-il du bacille coli dans l'eau de mer sur les côtes et si oui, tout le long des côtes ?

Notons avant d'aller plus loin et une fois pour toutes que nos prélèvements d'eau de surface — et il ne s'agit ici que d'eau de surface — ont été faits dans des flacons en verre de 250 cc. Ces flacons étaient bouchés par un tampon de coton et le bouchon émeri complètement enveloppé dans du papier filtre était fixé au goulot au moyen d'une ficelle. Le tout avait été stérilisé au four Pasteur à 170-180°. Tous nos prélèvements ont été faits d'une façon rigoureusement bactériologique, c'est-à-dire avec toutes les précautions aseptiques d'usage. A chaque endroit que nous avions choisi pour un prélèvement, nous faisions toujours trois prises d'essai dans trois flacons stériles. Et nous avions grand soin de noter immédiatement :

Le numéro d'ordre de notre prélèvement;
La date du prélèvement;
Le lieu du prélèvement;
La température de l'eau;

La température de l'air;
L'heure solaire du prélèvement;
L'heure de la marée avec son coefficient (heure de jusant et heure de flot);
La direction des vents et autant que possible la force des vents;
La direction et autant que possible la force des courants;
L'état de la mer;
Le temps du jour;
Le temps de la veille;
L'état du ciel et s'il y a lieu la durée de l'insolation;
La pression barométrique.

L'eau de mer transportée séance tenante au laboratoire était ensemencée dans notre eau peptonée phéniquée.

Nous notions alors : la quantité d'eau ensemencée, soit 50 cc., soit 20 cc., soit 10 cc., étant entendu que de toute façon nous avions un milieu d'un volume de 100 cc., puisque nous complétions toujours à 100 cc. par de l'eau distillée stérile ou de l'eau de mer stérile.

Puis la culture faite, nous notions :
Le résultat de l'examen microscopique;
Le résultat du Gram ;
Le résultat de la réaction de l'indol;
Le résultat de l'ensemencement sur gélose lactosée tournesolée;
Le résultat de l'ensemencement sur le lait tournesolé;
Le résultat de l'ensemencement sur bouillon glucosé.
Nous notions en outre la teneur de l'eau de mer en chlorures.

Nous dosions ces chlorures par la méthode de Mohr : Au moyen d'une solution aqueuse de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium comme indicateur. Nous avons préparé une liqueur de nitrate d'argent telle que 1 cc. corresponde exactement à un gramme de chlorures exprimés en chlorure de sodium. Pour cela nous avons pesé très précisément 29 gr. 07 d'azotate d'argent pur (desséché à 150°, non fondu, et refroidi dans un dessiccateur à l'abri de l'air et de la lumière), et nous l'avons fait dissoudre à froid dans une quantité suffisante d'eau distillée pour faire un volume d'un litre. Nous nous assurions au préalable que l'eau distillée dont nous nous servions répondait exactement aux essais du Codex et que notamment elle ne contenait ni traces de chlorures, ni traces métalliques, ni ma-

tières organiques en si infime quantité que ce soit.

Nous mesurions 5 cc. ou 10 cc. d'eau de mer à la pipette que nous mettions dans un flacon d'Erlenmayer et nous y ajoutions 20 cc d'eau distillée pour diluer le précipité abondant et cailleboté qui se produit forcément pendant le dosage en présence de quelques gouttes de solution aqueuse de chromate de potassium à 5 p. 100 comme indicateur. Nous disons « forcément » car le nitrate d'argent précipite tout d'abord le chlore de l'eau de mer en donnant un précipité cailleboté de chlorure d'argent et quand tout ce chlore est précipité, il donne avec le chromate de potasse du chromate d'argent rouge brique dont l'apparition dans notre flacon caractérise la fin de la réaction.

Il est bien entendu que dans l'eau de mer nous dosions ainsi la somme des chlorures : chlorures de sodium, de magnésium, de calcium, de potassium, et peut-être même de strontium, métal récemment découvert dans l'eau de mer (*Etude physico chimique de l'eau de mer* par A. Cussac, 1927), et que nous exprimions cette totalité de chlorures en chlorure de sodium.

Nous avons constaté que contrairement à ce qu'on pouvait penser *à priori* la teneur en chlorures dans l'eau de mer varie dans le bassin d'Arcachon d'une façon relativement considérable : plus de 11 grammes par litre suivant les lieux de prélèvement. C'est ainsi qu'au fond du port de La Teste nous avons trouvé 21 grammes de chlorure par litre tandis que près du banc de Pinau nous avons trouvé 32 gr. 10. Il nous est arrivé de constater en outre qu'exactement au même endroit la teneur en chlorures varie suivant les jours des prélèvements. Cette variation dépasse parfois 2 grammes et même 3 grammes par litre. En somme non seulement la teneur en chlorures n'est pas dans le bassin d'Arcachon, fixe et immuable, mais on peut affirmer qu'elle varie continuellement : il nous est arrivé de constater des différences sensibles du matin au soir dans un espace de quelques mètres carrés que nous avions soigneusement repéré et défini. Nous dirons donc que l'eau du bassin d'Arcachon a une teneur en chlorures qui oscille entre 21 et 32 gr. 10, chiffres extrêmes que nous avons trouvés.

Il est évident qu'en haute mer, la teneur en chlorures doit être infiniment plus constante. Il n'est pas douteux que le bassin d'Arcachon est plus sensible que l'Océan Atlantique à l'action des pluies et il est clair que la quantité d'eau douce que le bassin reçoit de petits cours d'eau et plus spécialement de

la Leyre n'est pas sans influence sur sa teneur en chlorures : l'examen montre d'ailleurs que, vers l'est, l'eau de mer du bassin est plus pauvre que dans les passes, par exemple.

Avant de quitter et pour clore cette très courte incursion dans le domaine de la chimie de l'eau de mer, il n'est pas sans intérêt de montrer simplement à titre documentaire le tableau comparatif des chlorures que nous avons trouvés dans une remarquable étude sur l'eau de mer. (*Des richesses naturelles de Biarritz en thérapeutique marine*, par A. Cussac, docteur en pharmacie (1911). Ce tableau qui reproduit « les diverses analyses faites par Bouillon-Lagrange, Faure, Miahle et Figuier, Dumesnil, Usiglio Boussingault et Gobel », montre la teneur des chlorures de six mers ou océans en regard de la teneur en chlorures du bassin d'Arcachon.

Tableau comparatif	Bassin d'Arcachon	Océan Atlantique	Manche	Mer du Nord	Méditerranée	Mer Noire	Mer Caspienne
Chlorure de sodium . .	27.965	26.646	25.805	20.497	30.484	64.964	36.731
» de magésium	3.785	5.853	2.905	1.695	3.704	107.288	6.324
» de calcium .	0.325	»	»	0.372	»	35.592	»
» de potassium	»	»	»	0.331	0.528	16.110	0.761
Total des chlorures .	32.075	32.499	28.609	22.895	34.714	223.954	43.816

Après le dosage des chlorures de nos prises d'essai, nous notions les observations que nous avions pu faire au sujet de l'endroit du prélèvement effectué : voisinage d'un égout avec sa position par rapport au prélèvement, voisinage de nombreuses méduses, présence de petites algues marines dans notre prise d'eau, etc...

Du reste, le tableau suivant qui comporte 50 analyses et qui n'a d'autre but que de montrer comment nous avons compris et effectué notre travail fixera les idées à ce sujet.

N° d'ordre	Date du prélèvement	Lieu du Prélèvement	Profondeur	T° eau	T° air	Heure solaire du prélèvement	Marée		Vent force et direction
							heure	coefficient	
1	26—3	Esc. droit extr. jetée d'Eyrac	su fa ce	15·2	17·	11h.30	2.52 j	50	ESE - N
2	26—3	» » »	»	16·2	»	»	»	—	- -
3	26—3	Esc. gauche ext jet. d'Eyrac	»	16·	18·9	13h.10	5.27 j	—	- -
4	26—3	» » »	»	»	»	»	»	—	- -
5	27—3	2e esc. gauc. jetée pl. Thiers	»	14·	16·	17h.15	5 f	35	NW - W
6	27—3	Hauteur hôtel Victoria	»	»	»	17h.10	»	—	- -
7	27—3	» » de France	»	»	»	17h.5	5 fl	—	- -
8	28—3	gauche jetée de la Chapelle	»	13·	14·	18h.	5 50 f	36	ENE - N
9	28—3	» » »	»	»	»	»	»	—	- -
10	28—3	» » »	»	»	»	»	»	—	- -
11	31—3	Pêcheries Nouvelles	»	14·	11·	8h.	5.22 j	69	E - ENE
12	31—3	» »	»	»	»	»	»	—	- -
13	31—3	» »	»	»	»	»	»	—	- -
14	27—3	Place Thiers jetée 3e escalier	»	13·	5·	»	1.39fl	38	NW - W
15	27—3	» » »	»	»	»	»	1.39 f	—	- -
16	28—3	Allée de La Chapelle	»	13·5	7·	9h.30	1.46 f	34	ENE - N
17	28—3		»	»	»	»	»	—	- -
18	28—3		»	»	»	»	»	—	- -
19	31—3	Pêcheries Nouvelles	»	14.	15·	14h.	1.02 f	79	E - ENE
20	31—3	»	»	»	»	»	»	—	- -
21	31—3	»	»	»	»	»	»	—	- -
22	27—3	Jetée Thiers 3e escalier	»	13·	14·	»	1.39fl	35	NW - W
23	2—4	Rue Michelet	»	15·	20·	»	2.26fl	110	SSO - SS
24		»	»	»	»	»	2.26 f	—	- -
25		»	»	»	»	»	»	—	- -
26		»	»	»	»	»	»	—	- -
27	4—4	Rue des Marins	»	12·	10·	7h.45	2.58 j	116	E - E
28	4—4	»	»	»	»		»	—	
29	4—4	»	»	»	»		»	—	
30	4—4	»	»	»	»		»	—	
31	7—4	Jetée Legallais	»	»	15·	16h.	3.50 f	69	E - NE
32	7—4	»		»	»		»	—	
33	8—4	Lapin Blanc extr. rue Corte	»	13·	10·	7h.30	0.44 f	60	- -
34		» »		»	»		»	—	
35	8—4	Bard Deganne prolongé	»	»	»	7h.40	0.34 f	—	
36		»		»	»		»	—	
37	21—4	Tir aux pigeons	»	»	»	18h.15	0.21 f	77	VARIABL
38				»	»		»	—	
39				»	»		»	—	
40	21—4	Moulleau (près jetée)	»	»	»	18h.25	0.11 f	—	
41				»	»		»	—	
42				»	»		»	—	
43	22—4	Daniel Meller Pyla-sr-Mer	»	»	11·5	18h.	1.13 f	68	W - W
44		*(devant place)*		»	»		»	—	
45				»	»		»	—	
46	22—4	Dev. hôtel Haïtza (Pilat)	»	»	12·	17h.30	1.43 f	—	
47				»	»		»	—	
48				»	»		»	—	
49	23—4	Au pied grande dune *(extrêm.*	»	»	20·	15h.	4.57 f	57	W - WS
50		» *route Pilat-Plage)*				»	»	—	

	Temps		Etat du ciel	Pression barométrique	Quantité ensemencée	Réaction indol	Fermentation gélose lactos. tournesolée	lait	Examen microscopique	Chlorures en NaCl	Observations
	jour	veille	Durée de l'insolation								
me	Beau	beau	bleu	773	10 cc	?	O	O		24 gr	
	..	..	bleu 2h30	..	..	?	O	O		..	
	..	..	bleu 4 h.	..	..	+	+	O	+	21.80	
	..	..	..	..	..	+	+	O	+	..	
	..	..	bleu 8 h.	774.5	..	+	+	O		21.04	prés. algues mar. des flacons
	..	..	..	..	..	O	O	O		21.10	
	..	..	..	..	..	+	-	+		21.	
	..	..	lég.couv.		..	O	O	O		21.40	
	..	..	..		..	+	+	O	+	..	
	..	..	..		..	+	+	O		..	
	..	..	beau	772.5	..	tr. fble	+	O		22.	égout à 10 m. *courant* ← *prise*
	..	..	..	..	..	O	O	O		..	
	..	..	..	..	..	O	O	O		..	
	..	..	..	..	..		+	-	+	21.90	11 *égout*
	..	..	..	..	..		O	O		..	
	..	..	..	..	..		O	O		23.	
	..	..	..	..	..		-	-	-	..	(Gram —
	..	..	..	..	..		+	O	+	..	
	..	..	..	..	..	-	-	-	-	22.50	égout à 5 mètres
	..	couvert	..	..	1 cc	O	O	O		..	*courant* (Gram —)
	..	..	..	..	10 cc	+	-	O		..	→
	..	..	..	..	..	+	+	+	+	22.	11 ×*prise*
	..	beau	..	757	..	+	+	O	+	21.80	*égout* (Gram —)
	..	..	..	..	..	?	+	O		..	
	..	..	..	..	5 cc	O	+	O		..	
	..	..	..	..	1 cc	O	+	O		..	
	..	pluvieux	nuageux	770	10 cc	+	+	+		21.90	
			..	..	..	+	+	+	+	..	
			..		5 cc	+	+	+		..	
			..		1 cc	+	+	+		..	
	..	beau		767.5	10 cc	+	+			23.	
			..	..	..	-	-			..	
	..	..	..	..	..	+	+	O		21.60	
			..		5 cc	+	+	O		..	
			..	..	10 cc	+	+	O	+	21.70	
			..		5 cc	-	-	O		..	*présence nombreuse algues et très nombreuses méduses sur la plage ; réaction de l'indol très forte immédiate et rouge cerise.*
	pluvieux	pluvieux	lég.couv.	764.5	10 cc	-	-	-	+	24.90	
					5 cc	-	-	-	+	..	
					1 cc	+	+	+	+	..	
				..	10 cc	O	O	O	O	28.70	
					5 cc	O	O	O	O	..	
					1 cc	O	O	O	O	..	
	..	..		768.5	10 cc	O	O	O	O	29.	
					5 cc	O	O	O	O	..	
					1 cc	O	O	O	O	..	
				..		O	O	O	O	29.10	
						O	O	O	O	..	
						O	O	O	O	..	
	beau	..		..	10 cc	O	O	O	O	29.30	
					5 cc	O	O	O	O	30.80	

Nous pensons qu'il n'est pas indispensable d'allonger considérablement ce tableau en l'enrichissant des 250 analyses que nous avons faites le long de la côte, et venons aux résultats : de ces analyses, il résulte que sur la côte il existe du bacille coli en plus ou moins grande quantité, depuis le port de La Teste jusqu'à mi-chemin entre Le Moulleau et la place Daniel-Meller. Une seule fois, nous avons trouvé du bacille coli à 100 mètres environ de la place Daniel-Meller dans la direction de Moulleau. Mais à partir de la place Daniel-Meller, en nous dirigeant vers l'Océan, nous n'avons plus trouvé de bacille coli dans l'eau de mer. Devant l'hôtel Haïtza, en particulier, où nous avons multiplié les prélèvements, nous n'avons jamais trouvé de bacille coli et à la hauteur de l'hôtel Haïtza jusque devant la dune du Sablonney, nous n'avons même jamais trouvé aucune flore microbienne après ensemencement de l'eau de mer sur notre bouillon peptoné ou sur notre milieu : eau de mer parfaitement pure, du point de vue bactériologique.

Si l'on veut bien jeter un coup d'œil sur la carte côtière, on verra donc que les hachures qui représentent la présence du coli et qui commencent au fond du port de La Teste, là où nous avons commencé nos recherches, finissent entre le Moulleau et la place Daniel-Meller.

Il ressort de nos analyses qu'à certains endroits ne se trouve qu'un nombre infime de bacilles coli puisque sur trois prises différentes d'eau exactement au même point, une seule prise parfois donnait un résultat positif. D'autres fois et notamment dans la région du Moulleau, nous avons eu certains jours des résultats positifs et certains autres jours des résultats négatifs. D'autres fois encore, selon que nous nous placions en amont ou en aval d'un égout, nous avions des résultats opposés. Des résultats opposés aussi, à une certaine distance d'un égout suivant que la marée était haute ou basse.

Avant d'essayer de distinguer les origines du bacille coli au bord de la mer et les influences qui jouent sur sa répartition et sur son mode d'existence et de tirer de nos analyses des conclusions qui sans doute seraient prématurées, voyons jusqu'à quelle distance le bacille coli vit au large. Ensuite nous étudierons la vie, la durée de l'existence du bacille coli dans le milieu marin, et ce n'est que lorsque nous aurons réuni tous nos renseignements en un faisceau que nous pourrons conclure utilement.

II. — **A quelle distance du rivage trouve-t-on encore du coli ?**

C'est extrêmement variable et il est impossible de dire jusqu'à quelle distance du rivage existe le bacille coli. Néanmoins, il y a des secteurs où on trouve le coli d'une façon à peu près constante. Ce sont, pour la région marine que nous avons étudiée :

1°) Le port de La Teste-de-Buch et le territoire dit des Près-Salés.

2°) Tout le long de la côte que nous avons signalée comme présentant du bacille coli et jusqu'à une distance de 50 mètres du rivage.

Mais nous avons tenu à ne pas en rester là. Même dans un ordre d'idées qui ne comporte pas de précision mathématique, nous avons voulu être fixés d'une façon aussi exacte qu'on peut l'être en l'espèce. Pour cela nous avons eu la pensée de partir d'un point déterminé, par exemple de la jetée d'Eyrac, d'y faire un prélèvement, et, tous les 50 mètres, en suivant la direction de la jetée vers le bassin, de faire un nouveau prélèvement, et ce jusqu'à une distance de 300 mètres.

Nous avons donc effectué ce travail :

1°) depuis l'extrémité de la jetée d'Eyrac;
2°) depuis l'extrémité de la jetée Thiers;
3°) depuis l'extrémité de la jetée de la Chapelle;
4°) depuis l'extrémité de la jetée du Moulleau.

Il y a lieu de faire observer que les extrémités de ces quatre jetées dominent l'eau de mer même aux marées les plus basses. Nous avons fait ce travail à des jours et à des mois différents, convaincus qu'en l'espèce, on ne peut vraiment retirer d'enseignement utile qu'en multipliant les examens dans des conditions atmosphériques et marines différentes.

Nous avons fait les prélèvements aux dates ci-dessous et à chacune de ces dates nous avons pris les nombreuses et mêmes notes que nous avons consignées au tableau I concernant la température, l'heure, la marée, l'état de la mer, le temps du jour, etc.

20 mars.	19 mai.	3 août.
2 avril.	1 juin.	20 août.
24 avril.	30 juin.	1 septembre.
4 mai.	10 juillet.	5 octobre.

A chacune de ces dates, nous avons fait la série complète des prélèvements. C'est-à-dire que partant de chacune des quatre jetées, nous opérions un prélèvement tous les 50 mètres depuis l'extrémité de la jetée où nous faisions un premier prélèvement jusqu'aux 300 mètres ou nous faisions notre dernier prélèvement. Cela nous faisait donc, devant chaque jetée, 7 prélèvements. Chaque prélèvement comprenant 3 prises d'essai, c'est donc 21 prises que nous faisions sur une même ligne et au total, devant les quatre jetées, 84 prises d'essai dans un même jour. Comme nous avons répété ce travail douze fois, nos conclusions sur le point particulier que nous examinons en ce moment ici se basent sur une somme de 1.008 analyses. Afin de ne pas alourdir notre exposé et dans la crainte de paraître fastidieux en racontant par le menu toutes nos recherches avec leurs résultats, nous avons cru devoir les réunir et les condenser dans le tableau ci-dessous.

Ce tableau comprend les résultats de 336 prélèvements, étant entendu que si chaque prélèvement comportait comme nous l'avons expliqué 3 prises d'essai, il nous suffit qu'une seule de ces 3 prises soit positive pour inscrire à notre tableau un résultat positif en regard du prélèvement.

| 1931 | Eau de surface - Jetée d'Eyrac | | |

Ce tableau, bien que succinct, nous semble plus éloquent qu'un long discours. Il montre en effet d'un coup d'œil :

1°) qu'à l'extrémité de chaque jetée, il y a toujours du bacille coli;

2°) qu'à mesure qu'on avance en mer, le bacille coli a tendance à diminuer.

3°) qu'à 250 mètres en mer on ne trouve plus de bacille coli.

Si on regarde le tableau de plus près, on s'aperçoit que par ordre de décroissance, en partant de la région la plus riche en bacilles coli, on peut classer les quatre régions comme suit :

1°) La Chapelle;
2°) Eyrac;
3°) Place Thiers;
4°) Le Moulleau.

Nous verrons plus loin si on peut expliquer, du moins en partie, cette classification. Mais avant de quitter la recherche du bacille coli à distance de la côte, nous devons donner les résultats de nos recherches au milieu du Bassin.

Que ce soit à marée basse, sur les rives des bancs de Bernet ou du banc de Pinau ou de l'île aux Oiseaux, que ce soit hors des chenaux ou dans les chenaux — et nous avons fait des prélèvements dans les chenaux de Cousse, de Mapouchet, du courant de Girouasse, de Monchalette, d'Andernos, de Canet, de l'Ile, d'Arès, du Comby — nous n'avons jamais trouvé de bacille coli. Seul le chenal de Piquey nous a montré des bacilles coli en deux endroits :

1°) devant Pirailhan, à 50 mètres, et même à 100 mètres de la rive : là, tous nos résultats ont été positifs.

2°) devant Piquey nous avons eu un résultat nettement positif à 100 mètres environ de la rive. Plus près de la côte — mais nous sortons du chenal — nos résultats ont été positifs.

Par ailleurs, même près des côtes, nous voulons dire de 50 à 100 mètres de la plage, depuis Sangla jusqu'à l'extrême pointe du Cap Ferret, nous n'avons pas une seule fois trouvé de bacille coli. Bien que ni du côté est, Gujan-Mestras, île Malprat, Audenge, Lanton, Taussat, Andernos, ni au nord, du côté de Lège et de Claouey, nous n'ayons fait de recherches, nous croyons avoir déjà une idée suffisante des endroits du bassin

d'Arcachon où on peut à bon droit suspecter l'existence du bacille coli. Et sans empiéter sur les conclusions que nous présenterons à la fin de ce chapitre, nous pouvons nous borner à constater dès à présent :

1°) que le bacille coli ne vit pas au large;
2°) que le bacille coli vit surtout près des côtes où se trouvent des agglomérations avec des égouts;
3°) qu'il vit jusqu'à une faible distance de la côte sauf dans certaines conditions spéciales réalisées par des anses analogues à l'anse B de notre carte n° 1. (Nous avons en effet trouvé du bacille coli partout dans le port de La Teste-de-Buch et partout dans la région dite des Prés Salés, presque à sec à marée basse et entièrement recouverte à marée haute.)

III. — Etude de l'existence du bacille coli en milieu marin.

Les deux premières parties de ce chapitre ne nous conduiraient qu'à des conclusions incertaines et très discutables si elles n'étaient étayées et complétées par cette troisième partie : la destinée du coli en milieu marin.

Peut-on savoir d'où vient le bacille coli en milieu marin. S'y reproduit-il à l'aise? Ou au contraire disparaît-il rapidement? En somme que devient le bacille coli dans l'eau de mer?

Pour répondre à cette question, étudions l'existence du bacille coli en milieu marin.

Nous avons fait un prélèvement sous la jetée d'Eyrac, tout près de l'orifice de l'égout, à marée basse et par temps plu vieux, le 3 avril. Nous avons constaté la présence du bacille coli et après numération par les méthodes que nous avons exposées au premier chapitre, nous avons trouvé 8.000 coli au litre. Le lendemain 4 avril, par beau temps, et à deux heures de flot, nouveau prélèvement au même endroit qui nous donnait 6.000 coli au litre. Que près d'une bouche d'égout on trouve constamment du bacille coli dans l'eau de mer avoisinante, rien là d'extraordinaire. Et la numération ici n'a d'autre objet que de fixer nos idées au sujet de l'ordre de grandeur du nombre de bacilles coli que l'on peut y trouver.

Mais s'il s'agit de savoir ce que devient le bacille coli qui, par l'égout, est amené en milieu marin. Nous trouvons ici du bacille coli d'une façon permanente parce que nous avons ici un apport

presque continu de coli par l'égout. Mais par la pensée supprimons brusquement et totalement l'égout : le bacille coli qui a été apporté dans l'eau de mer persistera-t-il ou pour parler un langage plus bactériologique cultivera-t-il ou sera-t-il détruit?

Nous avons résolu le problème non par une fiction mais en réalité. Et si nous n'avons pas supprimé l'égout d'un coup de baguette magique, tout s'est passé comme si nous l'avions fait. C'est qu'en effet nous avons eu recours à la Station Biologique avec les ressources dont elle dispose.

La Station Biologique d'Arcachon possède, entre autres, un bassin construit tout en ciment de 10 m. 16 de long, 1 m. 98 de large et 0 m. 83 de profondeur.

D'où vient l'eau qui le remplit?

La prise d'eau (ouvrage en ciment visible à marée basse) se trouve sous la jetée d'Eyrac, à moins de 4 mètres en arrière et à droite de l'orifice d'un gros égout, orifice visible aussi à marée basse et à peu près au même niveau que la prise d'eau.

Cette eau est amenée au moment du besoin à un premier bac qui se trouve à 4 ou 5 mètres au-dessus du sol au moyen d'une pompe aspirante actionnée électriquement.

De ce premier bac l'eau viendra à notre bassin par une simple conduite vu la différence de niveau.

Dans ce bassin :

1°) L'eau est évidemment sans mouvement.

2°) Elle ne reçoit jamais les rayons solaires sauf une bande de 30 à 40 centimètres sur la largeur pendant 2 à 3 heures par jour, le bassin se trouvant sous un haut et vaste hangar.

Vu la proximité de l'orifice de l'égout et de la prise d'eau (et d'autant que les marins de la Station quand ils veulent remplir leur bac actionnent le plus souvent la pompe quand la mer monte) nous pouvons admettre que l'eau de mer amenée au bac est une eau de choix du point de vue de l'ensemencement par l'eau d'égout : nous ne pouvons guère mieux souhaiter.

Or le 5 mai séjournait depuis 5 semaines dans le bassin de la Station, sans avoir été changée, l'eau de mer dont nous connais-

sons maintenant l'origine. Nous avons fait ce jour-là trois prélèvements de cette eau, un de 10 cc., un de 25 cc. et un de 50 cc., et nous avons ensemencé sur notre eau peptonée phéniquée. Le 6 mai nos trois ballons présentaient un trouble. Le 7 mai, les ballons présentaient, outre le même trouble des fragments nombreux de voile qu'à priori nous avons jugé constitués par du bacille subtil. (Ce qui a été contrôlé exact par la suite). La série de nos examens habituels nous a montré sans conteste possible que nous nous trouvions en présence de bacille coli. Car si sur les trois cultures, deux nous ont donné une réaction de l'indol négative et une seule une réaction très faiblement positive, par contre tous les autres caractères se sont trouvés vérifiés et notamment une fermentation abondante de la gélose lactosée tournesolée et la coagulation complète et rapide avec virage au rose de notre lait tournesolé.

Dès le 6 mai, voyant l'eau du bassin cultiver en eau peptonée phéniquée, nous fîmes deux nouveaux prélèvements en vue d'une numération du bacille coli.

Un premier prélèvement de 10 cc. que nous avons placé dans un autre ballon contenant 50 cc. eau peptonée phéniquée et 40 cc. d'eau stérile : ensemencement A. Répartition immédiate en dix tubes, 10 cc. dans chacun d'eux. Chaque tube contient donc 1 cc. de l'eau prélevée.

Un second prélèvement de 1 cc. que nous avons placé dans un autre ballon contenant 50 cc. d'eau peptonée phéniquée et 49 cc. d'eau stérile : ensemencement B. Répartition immédiate en 10 tubes, soit 10 cc. encore dans chacun d'eux. Chaque tube contenant donc 1/10^{e} de centimètre cube d'eau du bassin.

Le 8 mai 1 seul tube de l'ensemencement A présente un trouble et 2 tubes de l'ensemencement B présentent un trouble. Nous nous livrons à nos recherches habituelles : pour le tube A pas de doute : il s'agit de coli, tous les caractères sont vérifiés même la réaction de l'indol qui est nettement positive. Pour les 2 tubes B il en va autrement : assurément nous sommes devant quelque chose de nouveau. L'ensemencement sur gélose lactosée tournesolée ne donne rien et sur le lait tournesolé un seul tube donne très tardivement un résultat douteux qu'on pourrait toutefois interpréter comme faiblement positif. La réaction de l'indol est négative. Nous repiquons sur

grand étonnement, du staphylocoque. Le Gram confirme l'exagélose simple pour nous fixer. L'examen microscopique des deux cultures ne montre pas de bacille mobile, mais, à notre men microscopique : nous nous trouvons en présence d'une culture à peu près pure de staphylocoques.

Quoi qu'il en soit, il ressort de notre numération, et c'est un premier résultat, que l'eau de mer depuis cinq semaines dans notre bassin contient 100 coli par litre (puisque 1 coli par 10 cc. : ensemencement A).

Le 7 mai au matin, le bassin a été vidé de l'eau qui le remplissait, brossé à la brosse de chiendent, surtout le fond qui était tapissé d'une sorte de courte mousse verdâtre, rincé ensuite à l'eau de mer provenant du bac, puis rempli à nouveau par l'eau du bac.

Nous avons pensé que c'était là une occasion excellente de suivre le bacille coli par une numération quotidienne. Ce même jour donc, nous faisions un prélèvement de l'eau au moment même où cette eau en mouvement remplissait le bassin. La numération nous a donné 2.000 coli au litre. Le 8 mai, nous faisions un nouveau prélèvement de l'eau du bassin, eau qui avait donc séjourné 24 heures dans ce bassin. La numération nous a donné 400 coli au litre.

Prélèvement du 9 mai : 200 coli au litre.
Prélèvement du 10 mai : 100 coli au litre.
Prélèvement du 11 mai : 100 coli au litre.
Prélèvement du 12 mai : 100 coli au litre.
Prélèvement du 15 mai : 100 coli au litre.
Prélèvement du 20 mai : 100 coli au litre.
Prélèvement du 30 mai : 100 coli au litre.

Parallèlement le 8 mai, nous faisions un prélèvement d'eau de mer qui alimente le bac. Pour cela, nous avons eu soin, une fois la pompe aspirante mise en marche, d'attendre que la canalisation soit vidée de l'eau qu'elle pouvait renfermer et ce n'est qu'après quelques instants d'écoulement que nous avons placé notre flacon stérile sous le tuyau amenant l'eau de mer par saccades. Ainsi avions-nous l'eau de mer telle qu'elle provient de la prise.

La numération nous a donné 2.000 coli au litre.

Deux jours après, nous avons fait un nouveau prélèvement dans des conditions générales à peu près identiques : 2.000 coli au litre encore.

Nous avons fait alors une autre série d'expériences sur des récipients tout en verre, sorte de petits bacs de 34 centimètres de haut sur 27 centimètres de long et 23 centimètres de large, soit d'une contenance de plus de 21 litres.

Deux de ces bacs ont été remplis le 15 mai à 14 heures devant la bouche d'égout sur la jetée d'Eyrac. Ces deux bacs ont été recouverts d'une plaque de verre de façon à mettre l'eau à l'abri des poussières de l'atmosphère. Un de ces bacs a été placé sur la table d'un laboratoire très clair exposé à la lumière solaire toute la journée. L'autre bac a été placé à l'obscurité dans un placard. Auparavant le prélèvement de l'eau de ces bacs — eau qui dans les deux bacs est exactement la même — a été fait en vue de la numération. La numération nous a donné 15.000 coli au litre.

Le 16 mai, un prélèvement de l'eau du bac à la lumière donne à la numération 4.000 coli. Le même jour un prélèvement du bac à l'obscurité donne à la numération 10.000 coli.

Le 18 mai :

Bac à la lumière : 400 coli au litre.
Bac à l'obscurité : 1000 coli au litre.

Le 20 mai :

Bac à la lumière : Plus de bacille coli.
Bac à l'obscurité : 200 coli au litre.

Le 23 mai :

Bac à l'obscurité : Plus de bacille coli.

Ainsi de 15.000 coli le 15 mai nous sommes passés à zéro en cinq jours dans le bac exposé à la lumière et en huit jours dans le bac exposé à l'obscurité.

Nous avons recommencé cette expérience.

Le 27 mai, à onze heures, nous avons de nouveau rempli nos deux bacs à 3 mètres environ de l'orifice de l'égout. Nous les avons recouverts d'une plaque de verre et portés au laboratoire. Là, nous avons prélevé dans chacun de ces bacs 1 l. 1/2 d'eau de mer que nous avons mis dans un même bocal et nous avons ajouté à ces trois litres d'eau de mer 15 grammes de peptone de la Pharmacie Centrale préalablement écrasée et

triturée au mortier avec un peu de la même eau. Nous avons donc dans ce bocal une eau de mer peptonée à 1 p. 100. Le bocal voisine avec un des bacs sur la table du laboratoire à la lumière solaire tandis que l'autre bac est dans l'obscurité d'un placard.

La numération du bacille coli pour cette même eau de mer qui se trouve dans les trois récipients donne pour le prélèvement fait le 27 mai 10.000 coli au litre.

Le 28 mai : bac à la lumière : 900 coli au litre.
Le 29 mai : bac à la lumière : 100 coli au litre.
Le 1er juin : bac à la lumière : Pas de bacille coli.
Le 28 mai : bac à l'obscurité : 3000 coli au litre.
Le 29 mai : bac à l'obscurité : 2000 coli au litre.
Le 1er juin : bac à l'obscurité : 200 coli au litre.
Le 2 juin : bac à l'obscurité : Pas de bacille coli.

Donc, en quatre jours, le bac à la lumière passe de 10.000 coli au litre à zéro, et le bac à l'obscurité en cinq jours, passe de 10.000 coli à zéro.

A noter que le 1er juin l'eau du bac à la lumière non seulement ne contient pas de bacille coli, mais ne présente pas de flore microbienne : ensemencée sur eau peptonée, nous n'avons pas eu le moindre louche et sur notre milieu solide nous n'avons rien obtenu. Il en avait été de même le 20 mai : ce jour-là, l'eau du bac à la lumière (qui avait donné 15.000 coli au litre cinq jours auparavant) ensemencée sur eau peptonée, laissait un milieu parfaitement clair. Tel n'est plus le cas avec les bacs abandonnés à l'obscurité. Le 23 mai comme le 2 juin, alors que nous ne trouvions plus de bacille coli dans l'eau des bacs laissés à l'obscurité d'un placard, nous étions en présence par contre d'un bacille long, très légèrement mobile, prenant le Gram, ne faisant pas fermenter la gélose lactosée tournesolée et ne faisant pas coaguler le lait.

On ne peut manquer d'être frappé de cette exacte similitude dans les deux cas de nos deux expériences.

Quant à notre eau de mer peptonée qui le 27 mai avait 10.000 coli au litre, elle fut l'objet de prélèvements quotidiens et à chaque fois, nous avons constaté la présence du bacille coli. La numération nous a donné :

Le 28 mai : 6000 coli au litre.
Le 29 mai : 6000 coli au litre.

Le 1er juin : 2000 coli au litre.
Le 2 juin : 2000 coli au litre.
Le 4 juin : 1000 coli au litre.

Le 4 juin, l'examen microscopique montre un batonnet, d'une mobilité extrême et vraiment exceptionnelle, ne prenant pas le Gram, faisant fermenter la gélose lactosée tournesolée et coaguler le lait. Sur notre milieu, la culture se montrait très belle. Il semble que nous étions en présence d'un bacille coli d'une particulière vitalité bien qu'après culture sur notre eau peptonée phéniquée nous n'ayons pas obtenu la réaction de l'indol ni par le réactif nitrite de soude-acide chlorhydrique ni par celui d'Erlich (paradiméthylamidobenzaldéhyde).

Il aurait été intéressant de continuer nos prélèvements quotidiens sur cette eau de mer peptonée. Malheureusement, bien que recouvert d'une plaque de verre, notre bocal répandait dès le dimanche 31 mai, une odeur fécaloïde insupportable. A la surface du liquide se détachaient des fragments de voiles légers. Le 1er et le 2 juin l'odeur ne fait que s'accentuer et rend l'atmosphère du laboratoire nauséabonde. Le 3 juin l'odeur se répand et littéralement empeste l'enfilade des laboratoires de la Station Biologique. Le 4 juin, nous devenions tout à fait indésirables avec notre source d'odeur écœurante et nous nous débarrassions de ce milieu de culture après avoir fait, une dernière fois, un prélèvement.

En résumé :

Expériences sur même eau de mer riche en coli :

Bac lumière, pas de coli quatre jours après.
Bac obscurité, pas de coli cinq jours après.
Bac lumière + 1 p. 100 peptone : coli.

De cette courte étude sur la destinée en milieu marin du bacille coli nous tirerons trois conclusions :

1°) *Pour que l'on trouve du bacille coli en milieu marin, il est nécessaire qu'il y soit apporté en abondance, soit par des égouts, soit par des cours d'eau douce, soit par le voisinage d'agglomérations.*

2°) *Pour que la présence du bacille coli subsiste en milieu marin, ainsi qu'il est de fait près de certaines côtes habitées, il est indispensable que la contamination soit entretenue constamment par l'apport de nouveaux bacilles*

3o) *Le bacille coli, non seulement ne cultive pas en milieu marin, mais il est détruit au bout de quelque temps, quatre ou cinq jours au plus.*

Ces conclusions appellent quelques commentaires.

La première résulte naturellement des nombreuses analyses que nous avons faites à la fois le long des côtes et en tous sens au milieu du bassin d'Arcachon. Nous avons montré que le bacille coli est absent au centre du bassin comme il est absent près des côtes désertes et même près des côtes qui portent de rares villas. Par contre, il existe constamment tout le long du littoral de la ville d'Arcachon. Nous avons montré en outre que même dans les endroits côtiers où il se trouvait en extrême abondance, il ne vivait pas au-delà de 200 mètres de la côte vers l'intérieur du bassin. A ce sujet, rappelons que le millier d'analyses que nous avons faites dans le prolongement des quatre jetées d'Arcachon, nous a permis de dresser un tableau suggestif dont le simple examen nous a fait classer les régions des jetées de La Chapelle, d'Eyrac, de la place Thiers et du Moulleau suivant leur richesse en coli.

La connaissance de ces différents quartiers d'Arcachon explique pour une large part cette classification. Sous la jetée de La Chapelle comme sous l'embarcadère d'Eyrac se trouve un puissant égout de 0 m. 50 à 0 m. 60 de diamètre, qui déverse à la mer les eaux résiduelles de quartiers populeux, et par temps de forte pluie, ces eaux grossies et diluées se répandent parfois assez loin au large. La jetée de la place Thiers n'a pas d'égout dans son voisinage. Mais il est juste de remarquer qu'à marée haute la mer recouvre, immédiatement à gauche de cette jetée, une plage de petite superficie, extrêmement fréquentée, où ne manquent ni les excréments de chiens ni les détritus de toute nature. En outre nous sommes ici au centre même de l'animation balnéaire où la petite navigation de plaisance et la batellerie est de beaucoup la plus intense, et c'est dans ce coin de mer que baigneurs et baigneuses sont les plus nombreux. A Moulleau, l'égout est assez loin de la jetée (60 mètres environ). Moins important que ceux d'Eyrac et de La Chapelle puisque il n'a que 0 m. 30 de diamètre, il est en outre d'un débit beaucoup plus faible. Cet égout en effet qui part de l'avenue Notre-Dame-des-Passes et qui a 100 mètres de long, ne reçoit guère que les eaux de deux caniveaux et les eaux résiduelles d'un grand hôtel voisin. Au surplus nous nous res-

sentons du voisinage de l'Océan dont les mouvements brassent mieux et plus rapidement l'eau de mer. Ces quelques aperçus semblent nous autoriser à ajouter à notre conclusion ce corollaire :

Le plus ou moins grand éloignement du bacille coli au large est en raison de la plus ou moins grande richesse d'ensemencement sur le rivage.

La deuxième conclusion est clairement établie par les recherches et numérations du bacille coli dans l'eau de mer du bassin de la Station Biologique en regard des recherches et numérations du bacille coli dans l'eau de mer emmagasinée dans des bacs en verre recouverts d'une plaque de verre.

Dans ces derniers, qu'ils soient à la lumière ou à l'obscurité, pourvu qu'ils restent à l'abri de l'air, c'est-à-dire privés de l'apport de nouveaux bacilles, on s'aperçoit que l'eau de mer qu'ils contiennent, si riche qu'elle puisse être en coli, ne présente plus du tout de bacille coli au bout de cinq jours.

Au contraire, si on remplit le bassin de la Station d'une eau de mer plus ou moins riche en coli, on constate chaque jour une forte diminution du nombre des coli jusqu'à un chiffre qui paraît persister indéfiniment. En effet, dans une de nos séries d'expériences, l'eau de mer du bassin qui, pendant le remplissage, présentait 2.000 coli au litre, vingt-quatre heures après n'en présentait plus que 400. De 400 chute à 200 dans les vingt-quatre heures encore. Enfin de 200 l'eau tombe à 100 coli au litre dans les vingt-quatre heures qui ont suivi. Ainsi en trois jours, nous sommes passés de 2.000 coli à 100. A partir de ce moment-là, l'expérience montre que le chiffre se maintient. Les jours suivants, dix jours après, vingt jours après — et nous dirons même cinq semaines après, puisque nous avons encore trouvé 100 coli au litre dans une eau de mer qui était restée cinq semaines dans ce bassin — nous arrivons toujours au même résultat : le bacille coli ne disparaît pas. Qu'est-ce à dire et pourquoi la présence du coli persiste-t-elle ici?

Sans parler de l'air ambiant, du vent qui soufflant de terre emporte avec lui des germes prélevés sur son passage à la surface terrestre et les dépose à la surface d'une eau stagnante, nous devons noter que la marche des gens qui passent à un mètre ou deux du bassin soulève du sol des poussières qui retombent en partie dans l'eau du bassin; le gros chien

de la Station, par les jours ensoleillés, aime à se coucher à sa place de choix, le long du bassin, et sa sieste finie, il s'étire et se roule avec volupté, faisant surgir du sol un nuage de poussière. De plus, dans l'eau de ce bassin vivent des poissons : ils laissent forcément des déchets. Ainsi les facteurs de souillures sans être extrêmement variés sont cependant suffisants pour expliquer que la contamination soit faiblement, mais constamment entretenue. D'où d'ailleurs le petit nombre de coli par litre que l'on trouve continuellement dans l'eau du bassin (1).

La troisième conclusion est une conséquence directe de nos expériences sur l'eau de mer enfermée dans des bacs de verre. On a vu par exemple que dans un bac une eau de mer passait de 10.000 coli au litre à zéro en quatre jours. Et pour bien montrer que la destruction des coli ne provenait pas de causes extérieures et en particulier de l'action solaire, un autre bac en tout point identique au premier, enfermé dans l'obscurité d'un placard, et contenant la même eau de mer, nous a prouvé que la destruction complète du bacille coli s'opérait encore entièrement et de la même façon, mais dans un temps un peu moins rapide, en cinq jours à l'obscurité au lieu de quatre jours au soleil.

Il n'est peut-être pas sans intérêt de rapprocher notre troisième conclusion que nous commentons ici des conclusions des auteurs qui ont étudié la destinée du bacille coli.

Nous avons déjà cité au cours de notre premier chapitre M. Giard, qui nous disait notamment que « l'eau salée était un très mauvais milieu de culture pour les microbes », que le bacille d'Eberth « ne se multiplie pas dans les eaux de mer », et enfin que « dans une solution artificielle à 3 p. 100 les bacilles ne se développent point et disparaissent totalement vers le dix-huitième jour. »

Par ailleurs, nous lisons dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, n° 3, mars 1931 : « Sur la recherche du bacille coli dans les eaux », par MM. Diénert et Etrillard « Dans une eau emmagasinée dans un réservoir le bacille coli communis finit par disparaître au bout de deux ou trois semaines suivant la composition organique et minérale de cette eau ».

(1) Des prélèvements d'eau de mer ont été fait le 17 octobre dans le bassin. L'analyse montre que ce jour-là l'eau était totalement exempte de bacille coli.

Or, dans l'eau de mer nous avons montré expérimentalement que le bacille coli ne disparaissait ni après dix-huit jours ni après deux ou trois semaines, mais bien après quatre ou cinq jours au plus. C'est donc un résultat à souligner surtout lorsque l'on considère la vitalité et la grande résistance du bacille coli.

« Les cultures du bacille coli étendues sur des fils de soie et abandonnées à la dessiccation dans l'obscurité sont stérilisées après cent-cinquante-deux jours; elles le sont seulement après deux cents jours si on les conserve dans le vide. La lumière du soleil détruit en deux heures 98 p. 100 environ des bacilles du colon contenus dans une culture (Billings et Peckham). L'action de la chaleur sur le bacille du colon a été étudiée par Chantemesse et Vidal. Suivant ces auteurs, le bacille serait tué par une exposition de cinq minutes à la température humide de 58°; de une minute à 80°. Une température sèche de 58° maintenue plusieurs heures n'altère pas sensiblement sa vitalité. » (*Traité de bactériologie pure et appliquée* Miquel et Cambier.

*
* *

Jusqu'à présent nous avons fait des recherches expérimentales desquelles nous avons tiré les conclusions logiques et rationnelles qu'elles comportaient.

Mais du fait que nous avons établi que le bacille coli est détruit en milieu marin une question se pose et s'impose :

Pourquoi est-il détruit?

Assurément c'est là une question subsidiaire pour le chercheur qui doit avant tout se préoccuper des faits et s'efforcer d'en déduire les conséquences. Nous savons que se demander « pourquoi » comme nous le faisons ici, c'est sortir du champ strictement expérimental pour entrer dans le domaine des causes qui souvent sont complexes, profondes et obscures, et parfois même en dehors de nos moyens d'investigation scientifique. Néanmoins nous avons réfléchi au problème qui se posait à notre esprit et sans prétendre y apporter une solution exacte ou définitive nous nous sommes faits une opinion N'est-ce pas P.-L. Courier qui écrivait : « Publiez votre pensée; bonne, on en profite; mauvaise, on la corrige et on en profite encore? »

*
* *

Pourquoi le milieu marin détruit-il le bacille coli?

Selon M. Giard (Sur la prétendue nocivité des huîtres. *Revue*

d'hygiène et de police sanitaire, tome XXVI, du 20 août 1904), le milieu marin intervient de deux façons pour faire disparaître les bacilles coliformes :

1°) par l'action mécanique du flux et du reflux;
2°) par l'influence chimique des sels qu'il renferme.

Nous sommes tout à fait d'accord avec M. Giard pour reconnaître les propriétés assainissantes et le pouvoir antiputride de l'eau de mer (Voir citations de M. Giard, page 21). Depuis la plus haute antiquité l'action de l'eau de mer sur les plaies et les ulcères est connue. Et sans doute est-ce par atavisme qu'à l'heure actuelle encore, sur nos plages à la mode, à l'eau riche en microbes de toutes sortes, les baigneurs victimes d'une écorchure ou d'une coupure plus ou moins profonde, lavent immédiatement leur plaie à l'eau de mer et viennent la montrer à leur pharmacien en lui disant, avec une tranquille satisfaction, comme s'ils étaient dès lors immunisés quant aux suites de leur blessure : « Je l'ai bien lavée à l'eau de mer... ».

Donc sur ce point, pas de doute : les chlorures alcalins ont des propriétés bactéricides et résultats de laboratoire et constatations empiriques vont de pair.

Mais si nous sommes convaincus de l'influence chimique des sels que renferme l'eau de mer et en particulier des chlorures alcalins sur la destruction du bacille coli en milieu marin, nous faisons quelques réserves sur l'action mécanique du flux et du reflux.

Certes, nous ne tombons pas dans cette erreur de croire « que la rapidité des courants et la fréquence de leurs changements de direction sont sans influence sur la pureté des eaux, momentanément menacée par les déjections des égouts ». Des exemples prouvent, — et M. Giard cite avec à-propos les cas du vieux port de Marseille et des canaux de Cette, — que l'action des courants sur la pureté des eaux est manifeste. Même dans les eaux douces le fait est patent. Nous savons en effet par des examens nombreux et concordants que les eaux de la Seine, à Paris, contiennent par centimètre cube un nombre de colonies vingt fois plus fort qu'à quinze kilomètres en aval de Paris. « Si cet effet se produit dans les courants d'eau douce, à plus forte raison, dit M. Giard, doit-il se produire dans les courants d'eau salée ».

Si nous admettons très volontiers que par les vagues et par l'amplitude des mouvements marins, les microbes et en

particulier les bacilles coli, sont brassés et rapidement dispersés et que de ce fait, ils se trouvent dans des conditions défectueuses d'existence et de culture, nous ne voyons pas en cette action mécanique du flux et du reflux une raison majeure ou essentielle de la disparition du coli en milieu marin mais une raison secondaire et accessoire. Dans un bac contenant de l'eau de mer riche en coli il n'y a ni flux ni reflux : le bacille coli disparaît rapidement.

Il y a selon nous une autre raison, celle-là principale : c'est l'absence ou l'insuffisance des matières organiques dans l'eau de mer.

Expliquons-nous sur ce point.

« Outre les sels et les gaz, l'eau de mer contient en dissolution des matières organiques provenant des déchets des organismes : il suffit de songer à l'infinie variété des produits qui se dissolvent ainsi dans la mer pour apprécier les difficultés qu'offre cette étude. Cette partie de la chimie de la mer est certainement la plus difficile et il reste énormément à faire dans cette voie : le plus souvent on se contente d'évaluer la matière organique totale en l'oxydant par une solution titrée de permanganate de potasse ; les résultats ainsi obtenus ne paraissent pas présenter jusqu'ici un intérêt bien spécial. On a poussé cependant l'analyse un peu plus loin dans quelques cas, et évalué les combinaisons de l'azote sous forme d'ammoniaque libre ou albuminoïde ou de nitrite et de nitrate d'ammoniaque ; il est probable que les transformations et les destructions de ces composés azotés se font sous l'action de certaines bactéries chargées pour ainsi dire de la destruction des résidus vitaux. » (Docteur Richard, *L'Océanographie*, page 136.)

Nous avons donc fait de multiples recherches et dosages des matières organiques en milieu marin.

Avant d'aller plus loin, il convient d'indiquer la méthode que nous avons employée.

« Il est clair, écrit Duclaux, que les chimistes béniraient une méthode qui leur permettrait de découvrir et de doser facilement le total de la matière organique présente dans une eau. On aurait ainsi la somme de ses impuretés et une mesure de sa purification. Malheureusement on n'a pour cela que des procédés très imparfaits... »

Certes, l'examen des procédés qui s'offrent à nous pour le dosage des matières organiques dans une eau nous montre

d'abord qu'il s'agit moins de dosage rigoureux que d'évaluation, et que les résultats que fournissent les différentes méthodes en présence ont surtout une valeur de relativité, ou, pour parler plus clairement, qu'elles permettent, mises en œuvre dans des conditions identiques, d'évaluer *comparativement* la quantité des matières organiques que renferment des eaux de même nature.

Nous nous sommes adressés à la méthode dite du permanganate et nous avons fidèlement suivi la technique exposée par le Laboratoire du Conseil Supérieur d'Hygiène publique de France (Ministère de l'Intérieur. *Analyse des eaux, méthodes et procédés employés par le Laboratoire*. Imprimerie administrative, 1913.)

Nous n'exposerons pas ici par le menu cette méthode, certainement la plus connue et la plus généralement adoptée pour le dosage des matières organiques dans une eau. Qu'il nous suffise de rappeler qu'elle repose essentiellement sur les principes suivants :

1°) Une petite quantité de permanganate de potassium ajoutée à une eau renfermant des matières organiques se décolore et fait place à un dépôt brun d'oxydes de manganèse.

Si l'on dissout ce précipité dans de l'acide sulfurique et si l'on fait un essai comparatif avec une solution de permanganate dans l'eau exempte de matières organiques on constate que le permanganate perd son oxygène et se transforme d'après l'équation suivante :

Matière organique + Aq + 2 MnO^4K + 3 SO^4H^2 =

= SO^4K^2 + 2 SO^4Mn + 3 H^2O + Aq + 5O consommé par matière organique.

2°) On remarque également que certaines matières organiques enlèvent plus d'oxygène au permanganate en solution acide qu'en solution alcaline, tandis que d'autres agissent en sens inverse.

Ceci posé, nous avons fait nos recherches et dosages à la fois en liqueur acide et en liqueur alcaline. Nous savons en effet que les matières organiques complexes d'origine végétale (macération de produits végétaux par exemple) absorbent d'une façon constante bien plus d'oxygène en solution acide qu'en solution alcaline, alors que l'urine, les matières fécales, les produits de putréfaction des matières albuminoïdes, les eaux de

lavage de terres contaminées par des déjections alvines et des fumiers, ont une action sur le permanganate plus forte en solution alcaline qu'en solution acide.

Si pour l'hygiéniste désirant être fixé sur la qualité d'une eau il est indispensable de comparer les résultats entre les dosages en milieu acide et en milieu alcalin, étant donné qu'il doit tenir pour suspecte la matière organique d'une eau lorsque le chiffre de permanganate est plus élevé en milieu alcalin qu'en milieu acide, l'intérêt qui s'attache à cette comparaison n'est évidemment pas du même ordre pour nous qui faisons nos recherches en milieu marin. D'ailleurs nous n'avons nulle part trouvé chez les auteurs des dosages de matières organiques en milieu acide dans l'eau de mer : nous avons toujours constaté que le dosage avait été fait seulement en milieu alcalin puisque toujours présenté comme : « matière organique *animalisée* ».

C'est ainsi que A. Cussac (*Etude physico-chimique de l'eau de mer*, 1927), présente dans un tableau comparatif les chiffres de « matière organique animalisée » trouvés dans le Bassin d'Arcachon et dans différentes mers ou océans. Tandis que dans le Bassin d'Arcachon la matière organique animalisée est de 52 milligrammes, elle est de zéro dans l'Océan Atlantique, dans la Manche, dans la Mer du Nord, dans la Méditerranée, dans la Mer Morte et dans la Mer Caspienne. C'est ainsi encore qu'il y a près de 80 ans, le pharmacien J.-J. Fauré, de Bordeaux, dans un travail tout à fait remarquable, établissait, entre autres choses, que l'eau de la Gironde, à la Pointe de Grave à haute mer, contenait 46 milligrammes de « matière organique animalisée » ; 52 milligrammes au Verdon à haute mer ; 23 milligrammes à La Maréchale, à haute mer ; 12 milligrammes à Pauillac à haute mer ; 10 milligrammes au pâté de Blaye à haute mer. (*Analyse chimique des eaux du département de la Gironde* par J.-J. Fauré, Pharmacien à Bordeaux, Chaunas-Gayet, 34, Fossés du Chapeau-Rouge, 1853).

Cependant nous avons pensé que de faire les deux dosages dans toutes nos prises d'eau de mer et dans des conditions aussi rigoureusement identiques que possible pouvaient ne pas être sans intérêt. Aussi bien nos analyses en l'espèce n'ayant de valeur que par comparaison entre elles nous n'avons pas tenu compte de la légère alcalinité de l'eau de mer et le cas échéant nous avons opéré sur les mêmes dilutions. Ci-dessous les résultats que nous avons obtenus dans les différentes régions où

nous avons fait nos prélèvements, résultats exprimés en milligrammes d'oxygène par litre empruntés au permanganate de potassium.

Prés salés (marée haute) :
En solution acide : 52 milligrammes.
En solution alcaline : 40 milligrammes.

Place Carnot (à 100 mètres, droit devant la Place Carnot, marée haute) :
En solution acide : 29 milligrammes.
En solution alcaline : 26 milligrammes.

Chenal de Mapouchet :
En solution acide : 9 milligrammes.
En solution alcaline : 0 milligramme.

Chenal de l'Ile :
En solution acide : 3 milligrammes.
En solution alcaline : 0 milligramme

Près du banc de Pinau :
En solution acide : 12 mm. 5.
En solution alcaline : 0 milligramme.

Aux Abatilles (à 50 mètres de la côte) :
En solution acide : 20 milligrammes.
En solution alcaline : 4 mm. 95.

A 20 mètres de l'extrémité de l'embarcadère d'Eyrac :
En solution acide : 56 milligrammes.
En solution alcaline : 50 milligrammes.

A l'extrémité de la Jetée de la Chapelle :
En solution acide : 56 milligrammes.
En solution alcaline : 54 milligrammes.

Entre le Moulleau et la Place Daniel-Meller, à 20 mètres de la côte :
En solution acide : 3 mm. 125.
En solution alcaline : 1 mm. 25.

Au Pilat-Plage au pied de la grande dune :
En solution acide : 3 milligrammes.
En solution alcaline : 0 milligramme.

A 20 mille au large de la côte des Landes :
En solution acide : 3 milligrammes.
En solution alcaline : 0 milligramme.

Nous avons eu la curiosité de faire les mêmes dosages sur les mêmes échantillons d'eau de mer, mais privés de leurs chlorures par précipitation au moyen du nitrate d'argent.

Nous avons obtenu des résultats sensiblement différents. Nous savons que dans les eaux douces la présence des chlorures amène dans le dosage des matières organiques en milieu acide une cause d'erreur. C'est pourquoi d'ailleurs bien que l'importance de cette erreur dans une eau douce soit minime et bien près d'être négligeable « Duyk conseille d'éliminer préalablement ces sels en agitant l'eau à analyser avec de l'oxyde d'argent humide et en filtrant après une ou deux heures de contact ».

Dans l'eau de mer si on la débarrasse de ses chlorures, on constate qu'on diminue du même coup sa teneur en matières organiques en milieu acide. A la réflexion, on comprend qu'en milieu sulfurique et à l'ébullition le permanganate de potasse oxyde les chlorures de l'eau de mer. L'oxygène ainsi consommé s'ajoute à l'oxygène consommé par les matières organiques. D'où il suit que plus il y a de chlorures plus le permanganate abandonnera d'oxygène pour déplacer le chlore et plus on trouvera de matières organiques ; d'où il suit encore que même s'il n'y a pas une trace de matières organiques dans l'eau de mer, nous en trouverons, quand même et toujours, en milieu acide.

Il faut donc reconnaître que les résultats de nos analyses en milieu acide sont entachés d'erreur. C'est à peine si par comparaison entre eux, ces résultats ont une valeur indicative, d'ailleurs douteuse, même étant entendu que les dosages ont été faits dans des conditions de température, de durée, de concentration, de contact, de réaction, de milieu, aussi identiques que possible.

Aussi nous laisserons de côté les résultats que nous ont donnés nos dosages de matières organiques en milieu acide dans l'eau de mer et nous n'en tiendrons pas compte.

Nos seules analyses en milieu alcalin nous permettent de conclure :

1°) *Que nous ne trouvons pas de matières organiques au large.* Cela s'explique aisément car en regard d'une masse d'eau de l'ordre de grandeur de l'Océan Atlantique la matière organique, de quelque origine qu'elle puisse être, est tellement infinitésimale et près de zéro qu'elle échappe à toute investigation. Au surplus, comme nos recherches ne portent que sur de l'eau de surface continuellement en mouvement est-il interdit de penser à l'action oxydante de l'ozone ? en si infime quantité qu'il

puisse se trouver dans l'air ne pourrait-il suffire à détruire les traces infinitésimales de matières organiques que cette eau serait susceptible de contenir ?

2°) *Que nous ne trouvons des matières organiques que près des côtes habitées.*

Or nous avons vu que nous ne trouvions pas de bacille coli au large mais que nous en trouvions constamment tout près des côtes habitées et notamment sur tout le littoral de la ville d'Arcachon. Nous voyons là un parallélisme étroit entre la présence du coli et la présence des matières organiques. Par ailleurs, si dans un bac rempli d'eau de mer contaminée on introduit de la matière organique, un peu de peptone, par exemple, comme nous l'avons fait à différentes reprises, on constate à chaque fois que le chiffre des coli croît brusquement et considérablement. Il y a un rapport certain en milieu marin entre la teneur en matière organique et le nombre des coli. Absence totale de matière organique, absence totale de coli. Matière organique en quantité infime, telle qu'on la trouve sur le littoral arcachonnais, coli en quantité infime à l'existence difficile, et voué, sauf apport d'autres bacilles, à une disparition rapide et complète. Dans un milieu marin enrichi en matière organique le coli prend une vitalité intense et cultive abondamment. (Se reporter à l'expérience de l'eau de mer peptonée dans un bac en verre, page 50.)

Nous dirons donc que, selon nous, le bacille coli disparaît en milieu marin pour deux raisons principales :

1°) Par l'action chimique des sels de l'eau de mer.

2°) Par le manque de matières organiques, les matières organiques en milieu marin plus qu'ailleurs étant indispensables à l'existence du bacille coli et à sa culture.

CHAPITRE III

Le Bacille Coli et les Poissons Marins

Nous avons dit au début de ce travail qu'on trouvait constamment le bacille coli dans le tube digestif de beaucoup d'animaux. Mais le trouve-t-on chez les poissons et notamment chez les poissons marins ?

Nous nous sommes efforcés de nous renseigner par d'abondantes recherches bibliographiques.

Une communication à la *Revue d'hygiène* (Octobre 1912) : « Quelle importance faut-il accorder à la présence des poissons dans les eaux destinées à l'alimentation des villes », par le docteur P. Remlinger, Directeur de l'Institut Pasteur marocain, nous apporte des données intéressantes.

L'auteur a étudié à Mogador et à Tanger les anguilles et les barbeaux qui, dans ces villes, vivent dans l'eau destinée à l'alimentation. Il a constaté que *le tube digestif de ces poissons renferme à l'état normal du bacille coli* et des espèces de la putréfaction dont le rejet avec les matières fécales souille l'eau.

D'autre part, on démontre, dit-il, qu'un poisson vivant dans une eau contaminée par du bacille d'Eberth ou du vibrion cholérique recèle dans son tube digestif ces microbes pathogènes. Les poissons sont capables de véhiculer ces germes d'un fleuve contaminé à un affluent indemne pouvant ainsi causer des épidémies qui remontent les cours d'eau.

D'où nous croyons légitime de déduire que si des poissons d'eau douce vivent dans une eau riche en bacille coli on retrouvera du bacille coli dans leur tube digestif.

D'une autre communication à la *Revue d'hygiène*, du même auteur (avril 1927) : « Du rôle des poissons dans la transmission des maladies infectieuses et la contamination des eaux potables », nous retenons :

a) Qu'il y a de nombreux microbes, pathogènes et autres, à la surface du corps des poissons d'eau douce.

b) Que des poissons d'eau douce, même morts (l'infiltration se faisant alors par l'anus), mis très peu de temps dans des

bocaux additionnés de culture soit de bacille d'Eberth, soit de vibrion cholérique, soit de bacillus prodigiosus, puis décapités et leur chair musculaire et leur tube digestif servant à ensemencer des milieux nutritifs appropriés, on trouve la présence abondante des microbes cherchés.

Comme précédemment, il est naturel de penser que ce qui est vrai pour le bacille d'Eberth est vrai aussi pour le bacille coli.

Des travaux du docteur Remlinger, au point de vue qui nous intéresse, il résulte donc que le bacille coli existe ou peut exister dans le tube digestif des poissons d'eau douce, morts ou vifs.

En est-il de même chez les poissons marins ?

Ici, nous n'avons pas trouvé de production concernant le bacille coli dans ses rapports avec les poissons marins. Nous avons simplement appris : 1°) Que les recherches de A. Azzi sur le contenu intestinal d'un poisson du Golfe de Naples, le « Scyllium Stellare », ont décelé l'existence de plus de trente et une variétés de germes, — parmi lesquels nous relatons le bacille coli et des espèces liquéfiantes du genre Protéus. (Docteur Remlinger : Du rôle des poissons dans la transmission des maladies infectieuses et la contamination des eaux potables. *Revue d'hygiène*, Avril 1927.) ; 2°) Que « les cultures ensemencées avec le contenu du tube digestif des animaux des grandes profondeurs montrent qu'il y a là des bactéries, mais les couches de vase profondes paraissent en être très pauvres. » (Docteur Richard : *Océanographie*, 1907, page 257.)

Ainsi, à notre connaissance, il ne semble pas, jusqu'à présent, que l'on ait cherché à savoir si les poissons marins présentaient ou non du bacille coli dans leur tube digestif.

Il y a bien le « Scyllium Stellare » dans l'intestin duquel A. Azi a trouvé du bacille coli. Mais dans quelles conditions ? Nous n'avons pu, à notre vif regret, nous procurer le compte-rendu des recherches de A. Azzi. Mais de toute façon, ce résultat ne saurait suffire à résoudre la question que nous nous posons : le bacille coli existe-t-il chez les poissons marins ?

Si nous nous en tenons aux ouvrages de bactériologie ou de microbiologie, la réponse à cette question est, par avance, toute indiquée.

Consultons en effet les auteurs :

« Le coli bacille est un hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux. » (J. Courmont. *Précis de bactériologie pratique*, 1926, page 435). Plus loin page 749 : « On l'a rapidement trouvé dans l'intestin de l'homme et des animaux, dans le gros intestin surtout, où il est constamment présent. » Et, quelques lignes après : « Il existe dans le tube intestinal de l'homme et des animaux dès les premières heures qui suivent la naissance ».

Pareillement, dans le « *Précis de diagnostic chimique, microscopique et parasitologique* » (Guiart et Grimbert, 1922), nous lisons, page 501 : « Le coli bacille commence bien à se rencontrer chez l'enfant, mais il constitue surtout le saprophyte constant de l'homme et des animaux ».

Nous pourrions aisément multiplier les citations du même ordre. Pouvons-nous en déduire que dans l'esprit des auteurs la plupart des animaux et notamment les vertébrés qui constituent l'embranchement le plus différencié du régime animal présentent dans leur intestin du bacille coli ? Nous sommes d'autant plus fortement inclinés à le croire que M. le Professeur agrégé de bactériologie André Philibert, beaucoup plus catégorique dans son *Manuel de bactériologie médicale* (1928), nous dit : « Le coli bacille est un saprophyte constant du tube digestif qui se multiplie surtout et est à foison dans l'intestin, tout particulièrement le côlon, *chez l'homme et tous les animaux, même les invertébrés* qui le puisent dans la terre. » (*Page* 241). Et (*page* 244). « C'est un saprophyte qui envahit le tube digestif dès les premières heures de la naissance et mène non pas une existence précaire mais florissante dans les matières fécales où il se multiplie et se trouve par milliards *chez l'homme et tous les animaux*. De là il passe dans la bouche, le vagin, la peau, où il existe seulement à l'état d'unités. Rejeté avec les matières fécales dans la terre, il est *universellement* répandu dans l'air, l'eau, le sol, les produits alimentaires, le lait en particulier. »

Ici, pas d'ambiguïté possible : on trouve le bacille coli chez « tous les animaux, même les invertébrés ». Les poissons marins ne sauraient donc faire exception.

D'ailleurs, nous trouvons encore cette phrase page 130 (*Manuel de Bactériologie médicale*) : « Le colibacille existe normalement dans les matières fécales de tous les êtres aquatiques et terrestres. »

Or, M. le Professeur Mandoul nous avait fait part de son opinion qui allait à l'encontre de l'opinion classique. Il nous avait conseillé, nonobstant les traités ou manuels de bactériologie, de nous assurer si dans le tube digestif des poissons marins il se trouvait ou non du bacille coli. Selon l'hypothèse de M. le Professeur Mandoul, il y avait toute chance pour que l'on ne puisse que constater l'absence de bacille coli, non pas chez tous les poissons marins sans exception, mais au moins chez ceux qui ne vivent qu'au grand large dans un milieu complètement exempt de bacille coli.

A la vérité, cette opinion magistrale était solidement étayée. Car s'il n'est pas douteux que des recherches en quantité considérable faites sur des animaux nombreux et variés ont donné des résultats constamment positifs, il apparaît que ces recherches ont été faites un peu au hasard des besoins et des facilités. S'il y a des animaux, pigeon, huître, chien, grenouille, rat, lapin, etc., qui ont été l'objet d'expériences extrêmement nombreuses concernant l'étude des bacilles coliformes, il y en a d'autres, en grand nombre aussi, qui certainement, à ce point de vue, n'ont jamais été examinés. Or, en pareille matière, il ne faut pas trop vite généraliser. Chaque animal vit d'une vie qui lui est propre et c'est non pas seulement de sa situation dans l'échelle animale, mais de sa nature et de ses conditions particulières d'existence qu'on pourra légitimement tirer des conclusions quant à la flore bactérienne de son intestin. Parce qu'on trouve du bacille coli chez les lamellibranches, est-on en droit de dire qu'on en trouvera forcément chez les céphalopodes ? Est-ce que le fait d'avoir toujours trouvé du bacille coli chez les carnivores, les ongulés, les rongeurs, pour citer au hasard quelques ordres de la classe des mammifères, prouve formellement que le bacille coli existe chez les cétacés par exemple ? Est-ce que le chien qui se désaltère dans le ruisseau, le porc qui se plaît sur le fumier, le rat qui habite dans un égout, n'est pas mieux placé pour recueillir le bacille coli que la baleine qui ne vit qu'en haute mer, dans un milieu où on ne saurait trouver un seul bacille coli ?

Si donc il est téméraire de procéder par induction entre différents ordres d'une même classe, à plus forte raison est-il difficile d'adopter ce mode de raisonnement entre classes animales différentes. De sorte qu'affirmer que l'on trouve du bacille coli

chez tous les animaux, et entre autres chez les poissons marins, c'est étendre et généraliser des résultats d'une façon hardie et, ajouterons-nous, un peu hâtive.

*
* *

Nous nous sommes tout d'abord adressés aux poissons ne vivant qu'au grand large. Nous avons pensé qu'avec ceux-ci, du fait de leur habitat, nous avions davantage de chance de trouver des intestins sans bacille coli. Car enfin, où et comment ces poissons se contamineraient-ils ? Même si on admet qu'ils puissent, par extraordinaire, au moment du frai par exemple, absorber du bacille coli en s'approchant des côtes habitées, est-ce que le milieu marin, si nettement défavorable au coli, ne détruirait pas dans leur intestin les bacilles coli ingérés ?

Mais voyons les faits :

Des poissons pris le 12 mai à 30 milles au large d'Hourtin et par 100 mètres de fond avaient été placés, dès que pêchés, dans une bassine remplie d'eau de mer de surface prélevée sur le lieu de la pêche. Ces poissons avaient tous crevés au cours de la matinée du 14 mai dans l'eau inchangée de la bassine. A midi, ce même jour, ils nous étaient apportés enveloppés dans des journaux apparemment non souillés, — nous voulons dire d'aspect aussi propre que peuvent l'être des journaux du jour.

Nous trouvions :

Un chichard (*Trachurus trachurus*. Cuvier).
Un tacaud (*Gadus luscus*. L.).
Un merlan (*Merlangus vulgaris*. Bonap.).
Un merlus (*Merluccius vulgaris*. Cuv.).
Un grondin gris ou trigle (*Trigla gurnardus*. L.).

Empêchés en ce jour de fête de nous occuper de nos poissons, nous les portions immédiatement au frigidaire à la température de 0°.

Le 15 mai après-midi nous examinions ces poissons. Le poisson, couché sur l'arête dorsale, est fixé sur une plaque de liège par de fortes épingles fichées dans chacune des branchies écartées et dans la région caudale. Les nageoires ventrales qui peuvent gêner sont enlevées d'un coup de ciseaux. Puis nous procédons à l'ouverture de l'abdomen.

Quelle est notre technique ?

Nous dirons tout d'abord que nous n'avons pas *une* technique. Suivant les différentes familles de poissons et même sur des poissons différents appartenant à la même famille nous avons dû modifier notre mode opératoire pour le mieux adapter au poisson que nous examinions. Mais quelque soit la modification de détail que nous apportions à notre technique, celle-ci procède toujours d'un principe immuable : opérer d'une façon rigoureusement aseptique.

Pour cela, nous nous servions d'instruments (paires de ciseaux, rasoir, aiguilles lancéolées, aiguilles pointures, scalpels, fortes épingles, pinces à dissection, sondes cannelées en acier, pinces fines, pinces à pansements à tenon, spatules, ciseaux droits à tenon, stylets acier, lancettes, bistouris, etc.) stérilisés à 180° au four Pasteur. Le ventre était ouvert aseptiquement (en commençant à ouvrir un peu plus haut que l'anus de façon à ne pas toucher l'intestin) au moyen de fins ciseaux et de bistouris. Puis les parois de l'abdomen maintenues écartées, nous isolions l'intestin des autres viscères sans le déchirer au moyen de la sonde cannelée. A l'endroit qui nous paraissait le plus favorable nous appliquions — juste le temps d'y toucher — la lance rougie de l'aiguille lancéolée. Avec l'aiguille pointue stérile nous percions un trou dans cette petite portion du tube intestinal stérilisé par le fer rouge et immédiatement nous enfoncions dans ce trou une pipette Pasteur stérile. Par aspiration, nous vidions le contenu intestinal et nous ensemencions directement soit dans notre eau peptonée soit sur notre milieu solide. Quand il s'agissait d'intestins de gros poissons, au lieu de pipette Pasteur effilée, nous prenions une pipette ordinaire, toujours parfaitement stérile.

Pour les poissons que nous avons énumérés, avant d'ouvrir l'abdomen, nous avons passé sur leur face ventrale une large lame de fer portée au rouge.

a) Chichard : intestin vidé à l'aide d'une pipette ordinaire, contenu ensemencé.

b) Merlan : le ventre ouvert nous a montré un intestin rompu dans la cavité générale, vraisemblablement par décompression vu la profondeur d'où le poisson a été brusquement tiré.

Nous aspirons le liquide répandu dans la poche péritonéale. Nous ensemençons.

c) Merlus : Nous avons vidé par aspiration la poche stomacale à l'aide d'une pipette ordinaire. Ensemencement.

d) Trigle : Intestin vidé à l'aide d'une pipette. Ensemencement.

e) Tacaud : Contenu intestinal ensemencé.

Ces différents ensemencements sont faits sur eau peptonée le 15 mai et mis à l'étuve entre 15 et 16 heures. Le 16 mai, à la même heure, culture dans tous les ballons. A partir de ce moment, arrêt des étuves par suite du dérangement du compteur électrique jusqu'au 18 mai au matin.

Le 19 mai, à 9 heures du matin, nous repiquons nos cinq cultures sur eau peptonée phéniquée concentrée. Le 20 mai, à 18 heures :

Milieu Chichard a cultivé.

Milieu Tacaud a cultivé.

Les trois autres milieux sont parfaitement clairs.

Réactions de l'indol sur cultures Chichard et Tacaud sont négatives.

Nous ensemençons immédiatement cultures Chichard et Tacaud sur gélose lactosée tournesolée et sur bouillon glucosé.

Le 22 mai pas de fermentation ni de la gélose lactosée ni du bouillon glucosé.

D'autre part, l'examen microscopique des cultures en eau peptonée phéniquée qui présentent à leur surface de petits fragments de voile, nous avait montré des batonnets longs, peu mobiles, mais prenant le Gram.

Ces résultats vérifiés et confirmés sur notre milieu solide nous permettent de conclure à l'absence de bacille coli dans l'intestin des cinq poissons que nous avons examinés.

Le 22 mai, nous avons à nouveau examiné six poissons, crevés depuis quelques heures, qui avaient été pris dans la même région de pêche que les précédents et apportés de la même façon :

1°) Un merlus.

2°) Un grondin gris.

3°) Un rouget (*Mullus barbatus*. C. et Val.).

4°) Un chichard.

5°) Un tacaud.

6°) Un œillet (*Pagellus erythrinus*. L.).

Rien de particulier à signaler, sinon que l'intestin du rouget était littéralement bourré de fiente verte.

L'ensemencement du contenu intestinal de ces différents poissons a été fait sur eau peptonée ce 22 mai :

Le 25 mai :

Milieu n° 1 parfaitement clair.
» 2 légèrement trouble.
» 3 » »
» 4 » »
» 5 » »
» 6 » »

Repiquage en eau peptonée phéniquée des milieux 2, 3, 4, 5 et 6.

Le 27 et le 28 mai on ne peut que constater l'absence de toute culture en eau peptonée phéniquée.

Mêmes résultats négatifs sur notre milieu solide

Quinze jours après :

Un merlan.

Un trigle,

nous ont été apportés encore de la même région de pêche, mais cette fois vivants dans l'eau de mer prise sur le lieu de la pêche et contenue dans une vaste bassine.

Le contenu intestinal a été ensemencé sur eau peptonée.

Culture après 24 heures. Après passage sur eau peptonée phéniquée on constate après 24 heures et 48 heures et davantage, un milieu parfaitement clair. Résultats encore confirmés au point de vue de l'absence du bacille coli sur notre milieu solide.

*
* *

Des poissons qui ne vivent qu'au grand large et qu'on ne trouve pas dans le Bassin d'Arcachon (ou tout à fait exceptionnellement), comme ceux que nous venons d'examiner, passons à ceux qu'on ne trouve pas en haute mer et qui ne sortent guère du Bassin d'Arcachon.

Cela devient beaucoup plus commode pour nous. Nous pouvons pêcher nous-mêmes, joignant ainsi l'utile à l'agréable.

Le 5 mai, près du Banc de Pinau, nous avons eu la bonne fortune de prendre des loches (*Gobius niger* L.). Ces loches ont été jetées, dès que pêchées, dans une bassine très propre, qui a d'ailleurs été flambée avant d'être remplie d'eau de mer sur le lieu de la pêche. Elles ont été portées (dans la bassine recouverte d'une plaque de verre) au laboratoire et examinées vivantes séance tenante.

Pour les loches nous avons légèrement modifié notre modus operandi.

Fixées le dos au liège, la face ventrale a d'abord été frottée avec un tampon de coton imbibé d'éther, pour enlever le mucus, puis badigeonnée d'une seule et mince couche de teinture d'iode, de façon à obtenir un champ opératoire sûrement stérile.

L'intestin est vidé à l'aide de pipettes Pasteur effilées stériles.

Quatre loches sont examinées.

Loche n° 1 : Contenu intestinal présente, outre de la fiente, une tête entière de petite crevette.

Loche n° 2 : Contenu intestinal présente, outre un peu de fiente, un fragment de corps de crevette.

Loche n° 3 : Intestin bourré de fiente.

Loche n° 4 : Intestin bourré de fiente.

Ces différents contenus intestinaux ont été chacun ensemencés sur eau peptonée à 3 %. Mise à l'étuve à 36°.

Le 6 mai : N° 1 Milieu parfaitement clair.
N° 2 Milieu trouble.
N° 3 Milieu très légèrement trouble.
N° 4 Milieu très légèrement trouble.

Le 7 mai : N° 1 Très légèrement troube.
N° 2 Trouble avec fragments très nombreux de voiles.
N° 3 Trouble avec fragments abondants de voiles.
N° 4 Trouble.

Ces quatre cultures sont ensemencées sur :

Gélose lactosée tournesolée ;

Bouillon glucosé ;

Lait tournesolé ;

Eau peptonée phéniquée.

Réactions de l'indol sur chacune des cultures en eau peptonée : négatives.

L'examen microscopique des cultures en eau peptonée montre des bacilles mobiles prenant le Gram.

Le 8 mai : N° 1 Trouble en eau peptonée phéniquée.
N° 2 Parfaitement clair.
N° 3 » »
N° 4 » »

Le 9 mai : Sur N° 1 réactions de l'indol en milieu peptoné phéniqué = 0.

Quant aux quatre cultures ensemencées le 7 mai sur gélose lactosée et bouillon glucosé, elles ne donnent pas de fermentation. Avec le lait, pas de coagulation.

Conclusion : Sur les quatre loches examinées, aucune ne présente de bacille coli dans son contenu intestinal.

Nous avons refait la même expérience sur d'autres loches vivantes prises à l'extrémité de l'embarcadère d'Eyrac, loches que nous avons placées dès que pêchées dans un bocal rempli d'eau de mer. Sur six loches que nous avons examinées, six résultats négatifs au point de vue bacille coli dans l'intestin.

*
* *

Entre ces loches prises en liberté dans le Bassin d'Arcachon et les loches que nous allons prendre à l'épuisette dans un bassin de l'aquarium, trouverons-nous une différence dans la recherche que nous poursuivons ?

Le 4 mai, nous prenons dans le bassin de l'aquarium cinq loches. Ces loches avaient d'abord été pêchées par les marins de la Station Biologique non loin de l'embarcadère d'Eyrac. Elles sont dans ce bassin depuis plus d'un mois. L'eau du bassin n'a pas été renouvellée depuis cinq semaines environ.

Ces loches examinées nous présentent pour la plupart, au contraire de celles qui vivent libres en mer, des intestins vides de fiente ou à peu près. Sans doute ces poissons ne trouvent-ils pas dans l'eau du bassin de l'aquarium la nourriture qui leur est nécessaire.

Loche N° 1 : Intestin sans fiente. Nous ne puisons à la pipette Pasteur qu'une sorte de suc noirâtre. Ensemencement.

Loche N° 2 : Intestin sans fiente. Nous ne puisons à la pipette Pasteur qu'une sorte de suc noirâtre. Ensemencement.

Loche N° 3 : Intestin sans fiente. Nous ne puisons à la pipette Pasteur qu'une sorte de suc noirâtre. Ensemencement.

Loche N° 4 : Outre ce suc noirâtre, nous prélevons dans cet intestin une masse verte, serrée, semblant provenir de petites algues ou fragments d'algues comprimés. Le tout est ensemencé.

Loche N° 5 : Intestin bourré de fiente. Ensemencement.

Les ensemencements sont tous faits sur 50 cc. de notre eau peptonée phéniquée concentrée, à la quelle nous avons ajouté 50 cc. d'eau stérile.

Mise à l'étuve à 42°.

5 mai : Milieux 1, 2, 3, 4 parfaitement clairs.
Milieu 5 présente un trouble net.

6 mai : Milieux 1, 2, 3, 4 parfaitement clairs.
Milieu 5 trouble.
Sur cette dernière culture, réactions de l'indol = 0.
Nous repiquons sur gélose simple.

7 mai : L'examen microscopique direct de la culture sur gélose simple montre des bacilles très nombreux légèrement mobiles et cinés qui prennent le Gram admirablement.
Repiquage sur gélose lactosée tournesolée,
sur bouillon glucosé,
sur lait tournesolé.

8 mai : Nouvel examen microscopique de la culture sur gélose simple : exactement identique à celui du 7 mai. Gram positif.

9 mai : Culture sur gélose lactosée tournesolée = 0.
sur bouillon glucosé ..... = 0.
sur lait tournesolé ..... = 0.

Conclusion : Sur les cinq loches examinées aucune ne présente de bacille coli dans leur contenu intestinal.

Le 6 mai, nous renouvellions l'expérience sur trois autres loches prises encore dans le bassin de l'aquarium dans lequel se trouve la même eau inchangée.

Cette fois nous modifions encore notre technique. Désirant qu'on ne puisse nous objecter qu'en puisant dans l'intestin de ces loches avec une pipette Pasteur on ne vide qu'une partie de cet intestin, ou encore que des coli peuvent se trouver comme fixés le long de la paroi interne du tube intestinal, et qu'ainsi ils peuvent nous échapper, nous avons ensemencé, non plus le contenu intestinal, mais l'intestin tout entier coupé en tronçons. Bien entendu, nous avons dû isoler aseptiquement avec les plus grandes précautions l'intestin, puis, maintenu avec des pinces stériles, nous l'avons, avec des ciseaux stériles, sectionné en trois ou quatre tranches qui tombaient dans un ballon contenant soit l'eau peptonée, soit l'eau peptonée phéniquée.

Loche N° 1 : Pas d'excrément dans l'intestin. Suc noirâtre. Intestin entier coupé en morceaux. Ensemencement sur 10 cc. d'eau peptonée. Mise à l'étuve à 36°.

Loche N° 2 : Intestin entier coupé en cinq tronçons. Ensemencement sur 10 cc. d'eau peptonée.

Loche N° 3 : Intestin entier coupé en trois morceaux. Ensemencement sur eau peptonée phéniquée.

Le 7 mai : N° 1 Très légèrement trouble.
N° 2 Très trouble, noirâtre, odeur fécaloïde, la surface du milieu présente des fragments peu nombreux de voiles blanchâtres.
N° 3 Trouble.

Le 8 mai . N° 1 Légèrement trouble.
N° 2 Très trouble, noirâtre, odeur fécaloïde accentuée.
N° 3 Très trouble.

Ensemencement du N° 1 et du N° 2 sur eau peptonée phéniquée.

Ensemencement des N^{os} 1, 2 et 3 sur gélose lactosée tournesolée, sur lait, sur bouillon glucosé.

Réactions de l'indol pour le N° 3 en milieu peptoné phéniqué = 0.

Le 9 mai : Les ensemencements des trois cultures sur gélose lactosée et bouillon glucosé ne donnent rien. Avec le lait pas de coagulation.

Le 11 mai : N° 1 Pas de culture en milieu peptoné phéniqué.
N° 2 Trouble en milieu peptoné phéniqué.

Par ailleurs, les cultures sur gélose lactosée tournesolée sont :
Négatives avec le N° 1,
Positives avec le N° 2 (forte fermentation),
Négatives avec le N° 3.

Sur bouillon glucosé :
Négatives avec le N° 1,
Positives avc le N° 2,
Négatives avec le N° 3.

Sur lait tournesolé :
Négatives avec le N° 1,
Positives avec le N° 2 (coagulation totale avec virage au rose),
Négatives avec le N° 3.

Réactions de l'indol sur N° 2 et N° 3 en milieu peptoné phéniqué = 0.

L'examen microscopique des cultures N° 3 montre un bacille mobile prenant le Gram.

L'examen microscopique des cultures N° 2, soit sur gélose simple, soit sur gélose lactosée, montre un bacille mobile, très abondant, ne prenant pas le Gram.

D'où nous concluons que la loche N° 1 et la loche N° 3 ne contiennent pas de coli dans leur intestin, tandis que la loche N° 2 contient du bacille coli en abondance.

Le 6 mai nous prenons dans le bassin de l'aquarium une mule (*Mugil cephalus Risso*).

Nous trouvons un intestin vide. A la pipette Pasteur nous ne retirons guère que du sang.

Ensemencement sur 10 cc. d'eau peptonée

Mise à l'étuve à 36°.

Le 8 mai : Milieu très légèrement trouble.
Repiquage sur l'eau peptonée phéniquée.
Réactions indol en eau peptonée = 0.

Le 11 mai : Milieu peptoné phéniqué parfaitement clair.

D'où pas de bacille coli dans l'intestin de la mule.

Le 11 mai : Quatre loches pêchées, entre autres poissons, par les marins de la Station Biologique, près du banc de Pinau, séjournent depuis quelques heures seulement dans le bassin de la Station au moment où nous les prenons.

Trois sont examinées comme précédemment, c'est-à-dire que l'intestin a été ensemencé en tronçons en eau peptonée phéniquée et en eau peptonée.

Loche N° 1 : Cinq tronçons dans eau peptonée phéniquée. Etuve à 42°.

Loche N° 2 : Quatre tronçons dans eau peptonée. Deux tronçons ont été écrasés par une spatule stérile à la surface intérieure du col du ballon et récupérés par le milieu par une ou deux agitations de celui-ci. Etuve à 36°.

Loche N° 3 : Deux tronçons. Ensemencement sur eau peptonée. Nous fîmes glisser un des tronçons à l'intérieur du col du ballon de telle sorte qu'il puisse adhérer à la paroi interne du col et là nous le hachâmes avec un bistouri stérile avant de l'introduire dans le milieu. Etuve à 36°.

Le 13 mai : Loche N° 1 Milieu parfaitement clair.
Loche N° 2 Milieu trouble.
Loche N° 3 » »

L'examen microscopique de la culture N° 2 montre des bacilles légèrement mobiles, longs, ciliés, qui prennent admirablement le Gram.

L'examen microscopique de la culture N° 3 donne un résultat exactement identique.

Ensemencées sur eau peptonée phéniquée, sur gélose lactosée tournesolée, sur bouillon glucosé et lait tournesolé, les cultures N° 1 et N° 2 donnent toutes les deux et partout des résultats négatifs : milieux parfaitement clairs en eau peptonée phéniquée, pas de fermentations ni sur gélose lactosée ni sur bouillon glucosé, et pas de coagulation du lait.

Sur notre milieu, résultats identiques : absence de bacille coli dans l'intestin des trois loches examinées.

Nous avons répété ces expériences à cinq reprises différentes : Vingt-trois loches et quatre mules du bassin de la Station Biologique ont été ainsi examinées à des époques diverses. Nous n'avons jamais trouvé, sur ces vingt-sept examens un seul qui nous ait donné un résultat positif.

*
* *

Ainsi des loches vivant à l'extrémité de l'embarcadère d'Eyrac, dans une région polluée et où nous avons toujours — sauf de très rares exceptions — trouvé du bacille coli, ne présentent pas de coli dans leur intestin. Mieux encore. Des loches vivant depuis un mois dans un bassin de la Station dont l'eau contient 100 coli au litre ne présentent pas de coli dans leur intestin.

Devant des résultats aussi curieux nous avons voulu aller plus loin. Le 27 mai, à 15 heures, nous avons prélevé dans un bocal de deux litres, un demi-litre d'eau de mer à un ou deux mètres de l'orifice de l'égout sous la jetée d'Eyrac. Ainsi avions-nous toute chance d'avoir une eau de mer polluée et contenant du bacille coli. Un prélèvement fait immédiatement en vue de nous en assurer nous a donné deux jours plus tard un résultat positif.

Dans le bocal contenant ce demi-litre d'eau de mer, le prélèvement précédent fait, nous avons ajouté 3 grammes de peptone sèche délayée préalablement dans l'eau de mer.

Dans cette eau peptonée à 2 pour 1.000 nous avons mis deux loches.

Le 27 mai, à 20 heures, une loche était crevée. Nous l'avons jetée.

Le 28 mai, à la première heure nous avons constaté que l'autre loche était crevée. Depuis combien de temps ? Nous ne saurions le dire, mais vraisemblablement, vu l'état du poisson, depuis trois ou quatre heures au plus. D'ailleurs ce détail importe peu.

Examiné immédiatement, face ventrale nettoyée à l'éther puis aseptisée à la teinture d'iode, l'intestin de cette loche vidé aseptiquement à la pipette Pasteur nous donne une fiente couleur jaune clair.

Ensemencement sur eau peptonée.

Le 29 mai, à 17 heures, notre eau peptonée est parfaitement claire.

Le 30 mai : Eau peptonée encore parfaitement claire.

En somme cette loche est restée vivante dans l'eau de mer peptonée à 2 pour 1.000 qui contenait du bacille coli en quantité pendant une dizaine d'heures. Elle a crevé dans cette même eau où elle est restée à l'état de cadavre plusieurs heures et son contenu intestinal ne présente pas de bacille coli.

Même résultat négatif sur notre milieu.

*
* *

Voyons donc si nous trouverons du bacille coli chez les poissons morts, en vente à la halle chez les marchands de poissons.

Là, nous n'avons que l'embarras du choix.

Nous achetons un griset (*Cantharus griseu*, C. et Val.).

Intestin vidé aseptiquement et contenu noirâtre ensemencé sur eau peptonée phéniquée.

Mise à l'étuve à 42°.

Bouillon parfaitement clair le lendemain, le surlendemain et le jour suivant.

Pas de bacille coli.

Le 24 juillet nous achetons :

Un rouget,
Une mule (mule N° 1),
Une mule (mule N° 2).

L'intestin du rouget ne nous donne guère qu'un liquide rosé.

Ensemencement direct : 1°) Sur eau peptonée,
2°) Sur gélose simple.

Après 24 heures : eau peptonée trouble et, sur gélose, une culture a poussé.

Ensemencement sur : Gélose lactosée,
Bouillon glucosé.

Pas de fermentation après trois jours d'étuve.

Par ailleurs, l'examen microscopique des cultures a montré des bacilles longs, très peu mobiles, prenant le Gram.

Conclusion : Pas de bacille coli.

Mule N° 1 :

Mule gros dont l'intestin est rempli d'une fiente jaune et verte liquide.

Ensemencement :

1°) Sur eau peptonée. Après 24 heures : trouble avec voile à la surface. Une coloration légèrement rosée s'est manifestée après trois heures de contact avec les réactifs de l'indol

2°) Sur gélose simple :

Culture après 24 heures. L'examen microscopique montre des bacilles longs et mobiles prenant le Gram et des cocci.

Repiquage sur gélose lactosée tournesolée et sur bouillon glucosé : pas de fermentation.

Conclusion : Pas de bacille coli.

Mule N° 2 :

L'intestin nous donne une fiente jaune liquide. Ensemencé

1°) En eau peptonée. Après 24 heures nous obtenons un milieu clair qui ne devient très légèrement trouble qu'après plusieurs jours.

2°) Sur gélose simple : Pas de culture après 24 heures.

L'examen microscopique montre quelques rares micro-organismes en forme de levures. Pas de bacilles.

Le 30 juillet nous achetons encore :

Un rouget,
Une mule (mule N° 1),
Une mule(mule N° 2).

1°) Rouget.

Contenu intestinal : liquide rosé.

Ensemencé sur eau peptonée : après 24 heures milieu trouble.
sur gélose simple : culture ayant très légèrement poussé après 24 heures.

sur gélose lactosée : pas de fermentation.
sur bouillon glucosé : pas de fermentation.

Examen microscopique : quelques bacilles longs très peu mobiles.

Gram : pas de micro organismes sur la préparation.

Résultat de l'ensemencement sur notre milieu solide : négatif.

Pas de bacille coli.

2°) Mule N° 1.

Contenu intestinal : fiente liquide jaune et verte.

Ensemencée sur eau peptonée : milieu trouble et voile à la surface après 48 heures.
sur gélose simple : culture après 24 heures.
sur gélose lactosée : pas de fermentation.
sur bouillon glucosé : pas de fermentation.

Examen microscopique : bacilles mobiles et quelques cocci présentant une spore terminale

Gram : Bacilles prenant le Gram.

Pas de bacille coli.

3°) Mule N° 2.

Contenu intestinal : fiente liquide jaune.

Ensemencée sur eau peptonée : milieu clair après 24 heures, trouble après 72 heures.
sur gélose simple : pas de culture après 24 heures ; pas de culture après trois jours ni après quatre jours.

Examen microscopique : quelques rares micro organismes en forme de levures. Pas de bacilles.

Résultat de l'ensemencement sur notre milieu solide : négatif.

Pas de bacille coli.

Souventes fois nous n'avons pu examiner le contenu intestinal des cadavres de poissons que nous achetions au marché pour cette raison que nous nous trouvions en présence d'intestins tout à fait aplatis et complètement vidés. Mais plus souvent encore nous avons répété les examens que nous venons de décrire sur des cadavres de poissons différents. Trente examens nouveaux ont été faits : ces examens nous ont tous donné des résultats négatifs au point de vue bacille coli.

Discussion des résultats. — Que peut-on penser des résultats que nous avons acquis.

Pouvons-nous en déduire que tous les poissons marins, morts ou vifs, ont des intestins sans bacille coli ?

Remarquons d'abord que si nous ignorons le nombre des poissons dans la mer, du moins pouvons-nous avancer sans crainte que ce chiffre est extrêmement élevé. Or nos recherches ne portent guère que sur une quinzaine de poissons différents. Ce chiffre, en regard de la quantité prodigieuse et prodigieusement différente des poissons marins, c'est une goutte d'eau comparée à la mer.

Mais il faut aussi remarquer que ce n'est pas sur le chiffre des poissons examinés qu'il y a lieu de tabler ici pour arriver à conclure. Ce qui importe le plus, et à beaucoup près, ce sont les conditions dans lesquelles les examens ont été faits. Il est naturel de penser que si des poissons marins vivant habituellement dans une eau contaminée constamment par le bacille coli nous présentent à l'autopsie un intestin vierge de bacille coli, à plus forte raison, un poisson, quelqu'il soit, vivant au large, dans un milieu totalement exempt de bacille coli, ne saurait présenter du bacille coli dans son intestin. De sorte que les résultats que nous donnons, bien que peu nombreux, nous apparaissent comme ayant une valeur générale quant aux poissons marins.

Nous pouvons donc dire que les poissons marins ne présentent pas de bacille coli dans leur tube digestif, et ce sera notre conclusion.

Objections : Cependant des objections peuvent nous être faites.

1°) On peut nous dire d'abord :

— Dans vos différentes séries de recherches du bacille coli dans l'intestin des poissons marins, vous n'avez pas trouvé que des résultats négatifs. Une fois, vous avez trouvé dans l'intestin d'une loche du bacille coli en abondance. Sans doute, c'est un résultat unique, mais c'est précisément ce qui fait son importance, car à lui seul il apporte un démenti formel à votre conclusion.

— Assurément, depuis Claude Bernard, nous connaissons

tous la valeur des faits dans le domaine de l'observation et de l'expérimentation scientifiques. Nous nous inclinerions très volontiers devant un fait dûment établi : mais le fait dont il s'agit ici, n'est-il pas douteux, discutable, voire à rejeter ?

Etant données les multiples causes d'erreurs qui peuvent jouer en pareil cas, mais dans le sens positif seulement, c'est-à-dire par introduction de bacille coli étranger, soit par faute de technique ou de manipulation, soit simplement du fait d'une ambiance contenant momentanément du bacille coli, il est à priori très vraisemblable, pour ne pas dire certain, que l'unique résultat qui est en cause est entaché d'erreur

Mais serrons de plus près la question.

Il s'agissait, rappelons-le, d'un intestin sectionné, dont les tronçons ensemencés dans l'eau peptonée ont transformé ce milieu en moins de 24 heures en un liquide trouble et noirâtre, à odeur fécaloïde repoussante. Cela supposerait un ensemencement extrêmement riche en bacille coli. Un résultat aussi brutal dépasse trop et de trop loin le résultat positif qu'on pourrait, à la rigueur, admettre, pour qu'il n'y ait pas eu une cause d'erreur. Cette cause d'erreur devient manifeste si on considère que notre loche a été prise avec deux autres d'un même coup d'épuisette dans le bassin de la Station, que ces trois loches pêchées ensemble non loin de la jetée d'Eyrac par les marins de la Station, donc de même origine, vivaient depuis plus d'un mois dans la même eau du même bassin, que cette eau, depuis cinq semaines, était inchangée, et que, dans des conditions d'existence aussi strictement identiques, les deux autres loches ont donné un résultat négatif.

Ces données, ajoutées à ce qui précède, constituent une base solide à notre conviction : cet unique résultat est à laisser de côté comme erroné. Il ne faut pas en tenir compte.

2°) Une autre objection, plus sérieuse, peut intervenir

On peut nous dire encore :

— Nous ne mettons pas en doute vos résultats. Mais que prouvent-ils? Ils prouvent qu'en nous servant soit du milieu de Vincent, soit de votre milieu solide, vous ne trouverez pas de bacille coli dans l'intestin des poissons. Mais, ces milieux sont-ils idoines à la culture du bacille coli chez les poissons? N'oubliez pas que l'espèce coli présente des variétés adaptives

extraordinaires. Pourquoi voulez-vous qu'un bacille coli vivant d'une existence tout à fait spéciale dans l'intestin d'un poisson cultive de la même façon et sur les mêmes milieux qu'un bacille coli vivant dans un intestin humain? Votre étude sur le bacille coli chez les quelques poissons marins que vous avez examinés ne prouve qu'une chose, en somme : c'est que les milieux de culture que vous avez employés ne sont pas ceux qui conviennent à la variété de coli bacille que l'on trouve chez les poissons. Car il nous est difficile d'admettre qu'un poisson marin placé dans les conditions telles qu'il ingère continuellement du bacille coli ne présente pas, l'autopsie et la recherche faites immédiatement, du bacille coli dans son contenu intestinal.

— Certes, l'objection est de poids et elle mérite d'être prise en considération. Nous pourrions évidemment nous défendre en alléguant que les bactériologistes de l'Office des Pêches ont toujours mis en évidence le bacille coli chez les huîtres, quand il se trouve chez ces mollusques, en se servant de milieu de culture de Vincent. Celui-ci, depuis qu'il existe, leur a toujours donné d'excellents résultats, résultats qui depuis quelques mois sont confirmés par le milieu solide de Teague, modifié par MM. Diénert et Etrillard.

Pourquoi donc le milieu de Vincent serait-il bon pour le bacille coli chez les huîtres et mauvais pour le bacille coli chez les poissons? Ce sont les uns et les autres des animaux à sang froid et qui vivent dans la même eau de mer, — en ce qui concerne du moins le bassin d'Arcachon.

Mais nous ne nous arrêterons pas à cet argument. Nous préférons aborder le problème de face et essayer de le résoudre, si possible, bactériologiquement.

Les milieux de culture que nous avons employés ne conviennent pas à nos recherches? Soit. Efforçons-nous d'en trouver d'autres.

Le problème consiste à concevoir et à réaliser un milieu de culture qui se rapproche le plus possible par sa composition du milieu naturel dans lequel les microbes vivent chez les poissons marins. Que les microbes des poissons marins trouvent dans le milieu de culture que nous allons leur donner une matière organique à laquelle ils sont habitués et qui doit être, vraisemblablement, leur aliment de soutien et nous serons très près d'avoir trouvé la solution.

Or, au cours des recherches bibliographiques auxquelles nous nous sommes livrés pour savoir si la question des milieux de culture marins avait déjà été étudiée, nous avons trouvé une thèse pour le doctorat en pharmacie : « *Essais sur la bactériologie de l'eau de mer* », par J.-H. Guillemin (Bordeaux, 1901). Dans ce remarquable travail, il n'est pas question du bacille coli. Le but essentiel de l'auteur a été de rechercher dans l'eau de mer les espèces microbiennes aérobies nouvelles, et il en a découvert six qu'il a d'ailleurs parfaitement définies. C'est pour cette recherche qu'il a dû préparer des milieux de culture dont la composition lui est personnelle.

Parmi ces derniers, nous retenons les deux suivants (page 55):

1°) « 500 grammes de chair de poisson hachée a été mise à décocter sur un feu doux, dans un litre d'eau de mer, l'ébullition a été maintenu pendant cinq heures, le liquide ramené à 1.000 cc., neutralisé, est porté à 120° pendant une demi-heure, puis filtré, réparti dans des tubes qui, stérilisés à l'autoclave, serviront ensuite à l'ensemencement.

2°) Cette décoction de poisson additionnée de gélatine dans les proportions de 15 p. 100 neutralisée, filtrée, stérilisée, répartie, dans des tubes, servira de milieu solide pour l'ensemencement en stries ou en piqûres. »

Nous avons donc réalisé les deux milieux de Guillemin susindiqués, mais avec les modifications suivantes :

a) A la formule du premier milieu, nous avons ajouté de la peptone, mais de la peptone de poisson (peptone de Witte), à la dose de 10 p. 1.000 pour rendre le milieu plus nutritif.

b) Dans le second milieu, nous avons substitué à la gélatine ordinaire ou gélatine d'os de la gélatine de poisson, encore appelée colle de poisson ou ichthyocolle qui est « préparée avec la vessie natatoire de divers poissons et surtout celle des esturgeons (*Acipenser Hisso* L., *A. Sturio* L., *A. Glaber* Fitz, *A. Ruthenus* L., *A. Stellatus* Pallas, etc.); Ganoïdes. » (Codex medicamentarius gallicus).

Du point de vue bactériologique aucun inconvénient à cette substitution, puisqu'on y a souvent recours dans les laboratoires des pays chauds à cause de la température de fusion de l'ichthyocolle, qui est de 30°, tandis que celle de la gélatine est de 25°. Et par ailleurs nous avons cet avantage de ne pas sortir du poisson dans la composition du milieu.

Mais nous avons été arrêtés tout de suite quant à ce dernier milieu : il n'est pas arrivé à se solidifier au refroidissement.

Reste donc le premier milieu : le décocté de poisson dans l'eau de mer, suivant la formule de Guillemin, mais peptonée avec peptone de poisson à 10 p. 1.000.

Une question se pose avant toute autre : est-ce que sur ce milieu le bacille coli cultive?

C'est ce dont il faut nous assurer d'abord. Puis, s'il cultive, nous verrons dans quelles conditions.

Nous avons donc préparé :

a) ce premier milieu que nous appellerons le milieu de Guillemin peptoné.

b) le milieu de Guillemin peptoné, plus 1 p. 1.000 d'acide phénique. Ce sera le milieu de Guillemin peptoné phéniqué.

c) l'eau peptonée simple (page 11).

d) l'eau peptonée phéniquée (page 12).

e) notre milieu solide (page 30).

Nous allons ensemencer sur ces cinq milieux différents la même culture de bacille coli.

I. — Prenons d'abord une culture contenant du bacille coli provenant d'une urine humaine. Ensemençons sur nos cinq milieux et portons à différentes étuves à des températures appropriées (36°, 42°, 24°).

Après vingt-quatre heures, après quarante-huit heures :

1°) Sur milieu de Guillemin peptoné : culture.
2°) Sur milieu de Guillemin peptoné phéniqué : pas de culture. (Dépôt légèrement granuleux.)
3°) Sur eau peptonée simple : culture.
4°) Sur eau peptonée phéniquée : culture.
5°) Sur notre milieu solide : culture.

1°) Prenons la culture en milieu Guillemin peptoné.

Nous repiquons :

Sur gélose simple.
Sur gélose lactosée tournesolée.
Sur lait tournesolé.

L'examen de la culture sur gélose simple montre des bacilles dont quelques-uns sont mobiles et ne prennent pas le Gram, et de gros diplocoques prenant le Gram.

Sur gélose lactosée nous constatons une fermentation après seize heures.

Le lait est coagulé et décoloré.

Pas de doute : le bacille coli cultive sur milieu de Guillemin peptoné.

2°) Sur milieu de Guillemin peptoné phéniqué, pas de culture.

Voilà qui souligne nettement l'action inhibitrice de l'acide phénique.

3°) Sur eau peptonée simple : bacille coli.

4°) Sur eau peptonée phéniquée : bacille coli.

5°) Sur notre milieu solide : bacille coli.

II. — Ensemençons maintenant du bacille coli de culture pure provenant d'une souche de l'Institut Pasteur de Paris.

Après trente-six heures, après quarante-huit heures :

1°) Sur milieu de Guillemin peptoné : pas de culture.

2°) Sur milieu de Guillemin peptoné phéniqué : pas de culture (léger dépôt granuleux dans chaque tube).

3°) Sur eau peptonée simple : culture.

4°) Sur eau peptonée phéniquée : culture.

5°) Sur notre milieu solide : culture.

Examens et nouvelles cultures montrent sur ces trois derniers milieux le bacille coli.

Par contre pas de culture dans les milieux de Guillemin peptoné et peptoné phéniqué.

Il arrive quelquefois que les bactériologistes qui ont l'habiture de se servir des cultures des bacilles coli de l'Institut Pasteur constatent que ces bacilles coli manquent de vitalité. Est-ce ici le cas et faut-il conclure que si le bacille coli peut à la rigueur pousser sur le milieu de Guillemin peptoné (ne parlons pas du phéniqué) ce milieu n'est pas un milieu de choix, il s'en faut, pour la culture du bacille coli?

Mais faisons une nouvelle expérimentation.

Cette fois, nous prélèverons de l'eau de mer à proximité de l'égout des Pêcheries Nouvelles.

Nous ensemençons 1 cc. de cette eau de mer :

1°) Sur milieu de Guillemin peptoné.
2°) Sur milieu de Guillemin peptoné phéniqué
3°) Sur eau peptonée.
4°) Sur eau peptonée phéniquée.
5°) Sur notre milieu solide.

Et à titre d'essai sur deux milieux supplémentaires :

6°) Sur milieu solide A (formule personnelle).
7°) Sur milieu solide B (formule personnelle)

Formule du milieu solide A :

Milieu Guillemin peptoné	1000 cc.
Peptone de poisson	20 cc.
Lactose	15 gr.
Gélose	10 gr.
Gélatine	100 gr.

Formule du milieu solide B :

Milieu Guillemin peptoné	900 cc.
Peptone de poisson	20 cc.
Lactose	15 gr.
Gélose	10 gr.
Gélatine	100 gr.

Faire dissoudre. Neutraliser. Clarifier. Filtrer. Ramener à 900 cc. avec eau de source. Ajouter solution filtrée contenant :

Rouge Congo	2 gr.
Lessive de soude dite des savonniers.	1/2 cc.
Eau distillée	100 cc.

Mélanger.

Répartir en tubes très inclinés (2 à 3 travers de doigt).

Stériliser à 105° pendant une demi heure.

Sur ces sept milieux nous obtenons après trente six heures :

Sur milieu Guillemin peptoné : culture.
Sur milieu Guillemin petoné phéniqué : pas de culture.
Sur eau peptonée : culture.
Sur eau peptonée phéniquée : culture.
Sur notre milieu solide : culture.

Sur milieu solide A : liquéfaction partielle (au bout de seize heures)

Sur milieu solide B : culture.

Examinons ces différentes cultures :

1°) La culture sur milieu Guillemin peptoné est ensemencée sur gélose simple, sur gélose lactosée tournesolée, sur lait tournesolé.

La culture sur gélose simple, après seize heures à 36° montre à l'examen microscopique de très courts bacilles se présentant sous forme de cocco bacilles, extrêmement peu mobiles.

Gram : positif (ces bacilles prennent nettement le Gram).

Ces bacilles font penser par leur forme et leurs caractères aux « cocco bacillus maris », découverts et définis par M. J.-H. Guillemin : « *Essais sur la bactériologie de l'eau de mer* ».

Culture sur gélose lactosée tournesolée : fermentation à peu près nulle (2 à 3 petites bulles de la grosseur d'une tête d'épingle après vingt-quatre heures et trente-six heures d'étuve).

Culture sur lait : coagulation du lait tournesolé après seize heures, mais sans virage.

D'où il nous est très difficile de conclure que les bacilles que nous avons mis en évidence :

a) n'ayant pas la forme des bacilles coli tels qu'on le voit ordinairement;

b) étant d'une mobilité à peine sensible;

c) prenant le Gram;

d) donnant sur gélose lactosée une fermentation à peu près nulle;

e) coagulant le lait tournesolé sans toutefois le faire virer au rose;

il nous est difficile, disons-nous, de conclure que ces bacilles soient des bacilles coli.

2°) Sur milieu Guillemin peptoné phéniqué, toujours pas de culture après quarante-huit heures et soixante heures.

3°) La culture sur eau peptonée montre du bacille coli.

4°) La culture sur eau peptonée phéniquée après quarante-huit heures ne donne pas la réaction de l'indol ni avec le réactif nitrite de soude-acide chlorhydrique ni avec le réactif d'Erlich.

Ensemencée sur :

a) gélose simple;
b) gélose lactosée tournesolée.
c) lait tournesolé;
d) milieu solide A,

nous obtenons :

a) sur gélose simple, une culture abondante, beaucoup plus abondante que celle que nous avions obtenue par repiquage de la culture en milieu Guillemin peptoné sur gélose simple (voir page 70).

Examen microscopique : gros diplocoques et bacilles dont un grand nombre, mobiles.

Gram : bacilles ne prenant pas le Gram; gros diplocoques prenant le Gram;

b) sur gélose lactosée tournesolée : fermentation très nette après vingt-quatre heures;

c) sur lait : non coagulé après seize heures, entièrement coagulé après soixante heures avec virage au rose.

d) sur milieu solide A : liquéfaction partielle au bout de seize heures.

5°) Sur notre milieu solide : culture nette de bacille coli au bout de soixante heures.

6°) Sur milieu solide A : pas de culture apparente. Une seule bulle le cinquième jour.

7°) Sur milieu solide B : ce milieu ne tient pas en position inclinée et se liquéfie partiellement. Voile grumeleux, épais, abondant. Fermentation avec grosses bulles divisant le milieu.

Le bacille coli a poussé.

Ainsi, d'après les recherches expérimentales qui précèdent nous voyons une fois de plus :

a) que le bacille coli ensemencé en milieu de Guillemin peptoné ne nous donne pas sur ce milieu une culture qui nous permette de conclure ultérieurement à son existence;

b) que l'acide phénique ajouté au milieu de Guillemin peptoné empêche toute culture;

c) que la culture en eau peptonée, en eau peptonée phéniquée et sur notre milieu solide ont montré des bacilles coli en abondance.

Et aussi :

d) que sur les milieux solides que nous avons expérimentés à base du milieu de Guillemin peptoné n'ont donné que des résultats à peine sensibles dans le sens positif, sauf le milieu solide B, dont les résultats sont plus nets et qui ne diffèrent d'ailleurs de notre milieu solide personnel qu'en remplaçant l'eau par le milieu de Guillemin peptoné.

D'où nous pouvons conclure :

1°) Que le milieu de Guillemin même peptoné n'est pas un milieu de culture pour le bacille coli.

2°) Que l'acide phénique ajouté à la dose de 1 p. 1.000 au milieu de Guillemin peptoné empêche toute culture. (Le pouvoir inhibiteur de l'acide phénique dénoncé par MM. Diénert et Etrillard est ici mis nettement en évidence.)

Ces résultats sont pour nous d'un puissant intérêt.

Car si nous savons par les auteurs : 1° que pour la recherche des bactéries marines « les ensemencements doivent se faire dans les milieux (bouillon, gélatine, gélose), préparés à l'eau de mer et avec des poissons ou des crustacés marins; les milieux ordinaires des bactériologistes ne donnant souvent aucun résultat ». (Dr Richard. *Océanographie*, page 257); 2° que si les milieux de culture constitués par des décoctions de poissons dans l'eau de mer sont excellents pour la culture des microbes phosphorescents (entre autres, milieu indiqué par MM. Calmette, Nègre, Bocquet, *Manuel technique de Microbiologie et Sérologie*, page 78), nous pouvons, nous, affirmer que ces milieux de culture constitués par des décoctions de chair de poisson dans l'eau de mer, même s'ils sont peptonés, ne conviennent pas — mais pas du tout — à la culture du bacille coli.

Maintenant, nous sommes plus tranquilles quant à la valeur des résultats que nous avons donnés : absence du bacille coli dans l'intestin des poissons marins.

Nous croyons avoir répondu à l'objection qui, légitimement, pouvait nous être faite au sujet de nos milieux de culture. Et nos expériences nous permettent d'ajouter que pour rechercher le bacille coli même dans l'eau de mer ou chez les poissons marins les milieux de choix sont ici comme ailleurs, le milieu de Vincent, le milieu solide de Teague modifié par MM. Diénert et Etrillard ou notre milieu solide. Il ne saurait y avoir de milieux de culture spéciaux et spécialement adaptés au

bacille coli marin pour cette raison qu'il n'y a pas de bacille coli proprement marin. Le bacille coli qu'on trouve dans l'eau de mer près des côtes habitées est un déraciné, un transplanté, dans un milieu qui n'est pas fait pour lui et qui le détruira.

Au reste, nous avons tenu quand même et par acquit de conscience à rechercher le bacille coli dans l'intestin des poissons en nous servant du milieu de Guillemin peptoné concurremment avec le milieu de Vincent et notre milieu solide.

Milieu 1. — Nous avons préparé le milieu de Guillemin peptoné en nous servant uniquement de maquereaux.

Milieu 2. — Nous avons préparé le même milieu en nous servant uniquement de loches.

Milieu 3. — Nous avons préparé le même milieu en nous servant de poissons variés.

Sur le milieu 1 nous avons ensemencé uniquement le contenu d'intestins de maquereaux.

Sur le milieu 2 nous avons ensemencé uniquement le contenu intestinal de loches.

Sur le milieu 3 nous avons ensemencé à la fois le contenu d'intestins de loches et de maquereaux

Sur ces milieux nous avons obtenu partout, comme il fallait s'y attendre, des résultats négatifs quant à la présence du bacille coli. Cette absence de bacille coli a été confirmée à la fois sur milieu de Vincent et sur notre milieu solide. Vu nos expériences précédentes, ce sont ces derniers résultats qui du point de vue bacille coli doivent être seuls pris en considération.

Ainsi pouvons-nous maintenir entièrement notre conclusion .

Les poissons marins, morts ou vifs, ne présentent jamais de bacille coli dans leur intestin, même si l'eau de mer dans laquelle ils vivent renferme du bacille coli.

Nous pourrions aller plus loin dans cette voie. Une expérience que nous avons faite incidemment sur une seiche nous a montré que ce mollusque nageur n'avait pas, lui non plus, de bacille coli dans son tube digestif. Nous nous réservons dans des

travaux ultérieurs d'examiner d'autres animaux marins, certains mammifères (marsouins par exemple), certains crustacés, mollusques, tous vivant complètement et exclusivement dans la mer, pour nous rendre compte s'il ont du bacille coli dans leur tube digestif.

Nous avons de bonnes raisons de penser qu'à l'instar des poissons marins ces animaux strictement marins nous donneront des résultats négatifs. Mais des recherches expérimentales nombreuses — et nous les ferons — sont indispensables pour être fixés.

CONCLUSIONS

Nos *recherches expérimentales sur le bacille coli en milieu marin et chez quelques poissons marins* nous permettent, entre autres choses, de faire connaître :

1°. **Un procédé personnel d'isolement du bacille coli**

Notre méthode, simple et précise, permet à basse température et du même coup, de cultiver, de différencier, et de numérer, outre le bacille coli, les divers germes d'une eau où d'une matière quelconque, ensemencée directement sur un milieu solide n'ayant aucun pouvoir inhibiteur. Elle s'affirme ainsi comme préférable aux méthodes française et américaine.

2° **La destinée du bacille coli en milieu marin, dans l'espace et dans le temps.**

Nous avons établi notamment :

a) Pour que l'on trouve du bacille coli en milieu marin, il est nécessaire qu'il y soit apporté en abondance soit par des égouts, soit par des cours d'eau douce, soit par le voisinage d'agglomérations.

b) Pour que la présence du bacille coli subsiste en milieu marin ainsi qu'il est de fait près de certaines côtes habitées, il est indispensable que la contamination soit entretenue constamment par l'apport de nouveaux bacilles.

c) Le bacille coli non seulement ne cultive pas en milieu marin, mais il est détruit complètement au bout de quatre à cinq jours au plus.

3° **Un fait nouveau**.

Alors qu'il est classique d'admettre que le bacille coli existe dans l'intestin de tous les vertébrés (et même des invertébrés, d'après certains auteurs), nous avons montré, partant de l'hypothèse de M. le Professeur Mandoul, que les poissons marins, morts ou vifs, ne présentent jamais de bacille coli dans leur tube digestif, même si l'eau de mer dans laquelle ils vivent renferme du bacille coli.

Vu, bon a imprimer ;
Le Président,
H. MANDOUL.

Vu :
Le Doyen,
C. SIGALAS.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 21 Novembre 1931.
Le Recteur de l'Académie,
F. DUMAS.

BIBLIOGRAPHIE

Agasse-Lafont (E.). — Les applications pratiques du laboratoire à la clinique, Vigot, 1920.

Bailly-Salin. — L'eau potable dans la ville de Sens, *Th. de doctorat en pharmacie*, U. P., 1912.

Borde (F.). — Le contrôle sanitaire ostréicole (Rapports). *Bulletin de l'Association ostréicole et de la station de contrôle sanitaire du bassin d'Arcachon*, Cadoret, 1927, n° 1.

Calmette, Nègre et Bocquet. — Manuel technique de microbiologie et sérologie, Masson, 1926.

Courmont (J.). — Précis de bactériologie pratique, Doin, 1926.

Coutière. — La chimiatrie. *Biologie médicale*, mars 1929.

Cussac (A.). — Etude physico-chimique de l'eau de mer « La Biomarine », Dieppe, 1927.

— Des richesses naturelles de Biarritz en thérapeutique marine, 1911.

Diénert (F.). — Eaux douces et eaux minérales, Béranger, 1912.

Diénert et Etrillart (P.). — Recherche et numération directe sur milieu solide du bacille coli contenu dans un grand volume d'eau. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XLIII, oct. 1929, n° 10.

— Sur la recherche du bacille coli dans les eaux. *Ann. Inst. Pasteur*, t. XLVI, mars 1931, n° 3.

Denigès (G.), Chelle (L.), Labat (A.). — Précis de chimie analytique (Norbert Maloine).

Dujarric de la Rivière (R.) et T.-H. Chu. — Sur quelques techniques d'isolement et d'identification des microbes des eaux. *Rev. d'hygiène et de médecine préventive*, t. LIII, avril 1931, n° 4.

Faure (J.-J.). — Analyse chimique des eaux du département de la Gironde, Chaumas Gayet, 1853.

Fleury (G.). — Un nouveau procédé d'isolement du bacille coli dans l'eau (*Bull. Soc. Ph. Bordeaux*, t. III, 1931).

Giard (A.). — Sur la prétendue nocivité des huîtres. *Revue d'hygiène et de police sanitaire*, t. XXVI, août 1904.

Guiart (J.) et Grimbert (L.). — Diagnostic chimique, microscopique et parasitologique, Lamarre, 1922.

Guillard (M.-A.). — Analyse de l'eau : méthodes françaises et étrangères. *Annales d'hygiène publique*, 1927.

Guillemin (J.-H.). — Essais sur la bactériologie de l'eau de mer. *Th. de doctorat en pharmacie*, U. B., 1901.

Jadin (F.) et Astruc (A.). — Précis d'hydrologie, de géologie et de minéralogie, Maloine, 1920.

Joubin. — La vie dans les Océans.

Lalesque (F.). — Arcachon, ville de santé, Masson, 1919.

Levine (M.). — On the correlation of the Voges-Proskauer's and methyl red reactions in the colon-aerogenes group of bacteria. *Journ. Inf. Dis.*, t. XVIII.

— Id. t. XXIII, 1918. *American Public Healt Association, Standard methods of Water Analysis*, 5 th. ed. 1925 « Eosin-methylène blue agar ».

On the signifiance of the Vosges and Proskauer's reaction. *Journal of Bacteriology*, 1916.

Levine, Welter and Johnson. — The Vosges Proskauer reaction and correlated reactions of colilike arganisms. *Journ. Inf. Dis.* t. XXI 1917.

Llaguet (B.). — Contrôle hygiénique de l'huître à la Station d'Arcachon. *Bull. Société Ph. de Bordeaux*, t. III, 1923.

Loubatié (R.). — La fixation de l'iode à l'état organisé dans le corps de l'huître vivante. *Bull. de la Station Biologique d'Arcachon*, t. 27, 1930.

— *Journal de médecine de Bordeaux et de la région du Sud-Ouest*, 10 févr. 1931.

Loubatié et Salles. — Une nouvelle forme de la médication iodée par l'absorption des huîtres ayant fixé et organisé de fortes quantités d'iode. *Bull. Acad. Médecine*, t. CII, nov. 1929, n° 38.

Mandoul (H.). — Enseignement de microbiologie du professeur Mandoul. Notes et techniques recueillies par Girard.

Mandoul (H.), Verdun. — Précis de zoologie, Maloine et Fils, 1922.

Ministère de l'Instruction publique. — Codex medicamentarius gallicus, Masson, 1920.

Ministère de l'Intérieur. — Laboratoire du Conseil supérieur d'hygiène publique de France. Analyse des eaux, méthodes et procédés, Imprimerie administrative, Melun, 1913.

Miquel (P.) et Cambier (R.). — Traité de bactériologie pure et appliquée, Naud, 1902.

Molliex (P.). — Analyse bactériologique des eaux potables, Le François, 1925.

Moreau (E.). — Histoire naturelle des poissons de la France, Masson, 1881.

Ohlmüller (W.). — Guide pratique pour l'analyse de l'eau, Baudry, 1898.

Perrier (R.). — Zoologie, Masson, 1912.

Philibert (A.). — Manuel de bactériologie médicale, Masson, 1928.

Quinton. — L'eau de mer, milieu organique.

Remlinger (P.). — Quelle importance faut-il accorder à la présence des poissons dans les eaux destinées à l'alimentation des villes. *Revue d'hygiène*, octobre 1912.

— Du rôle des poissons dans la transmission des maladies infectieuses et la contamination des eaux potables. *Revue d'hygiène*, avril 1927.

Richard (J.). — L'Océanographie, Vuibert et Nony, 1907.

Roché (G.). — La culture des mers en Europe, Alcan, 1898.

Sartory (A.). — Guide pratique des principales manipulations bactériologiques à l'usage des pharmaciens, Berger, 1919.

Simon (R.). — Les applications thérapeutiques de l'eau de mer, Masson.

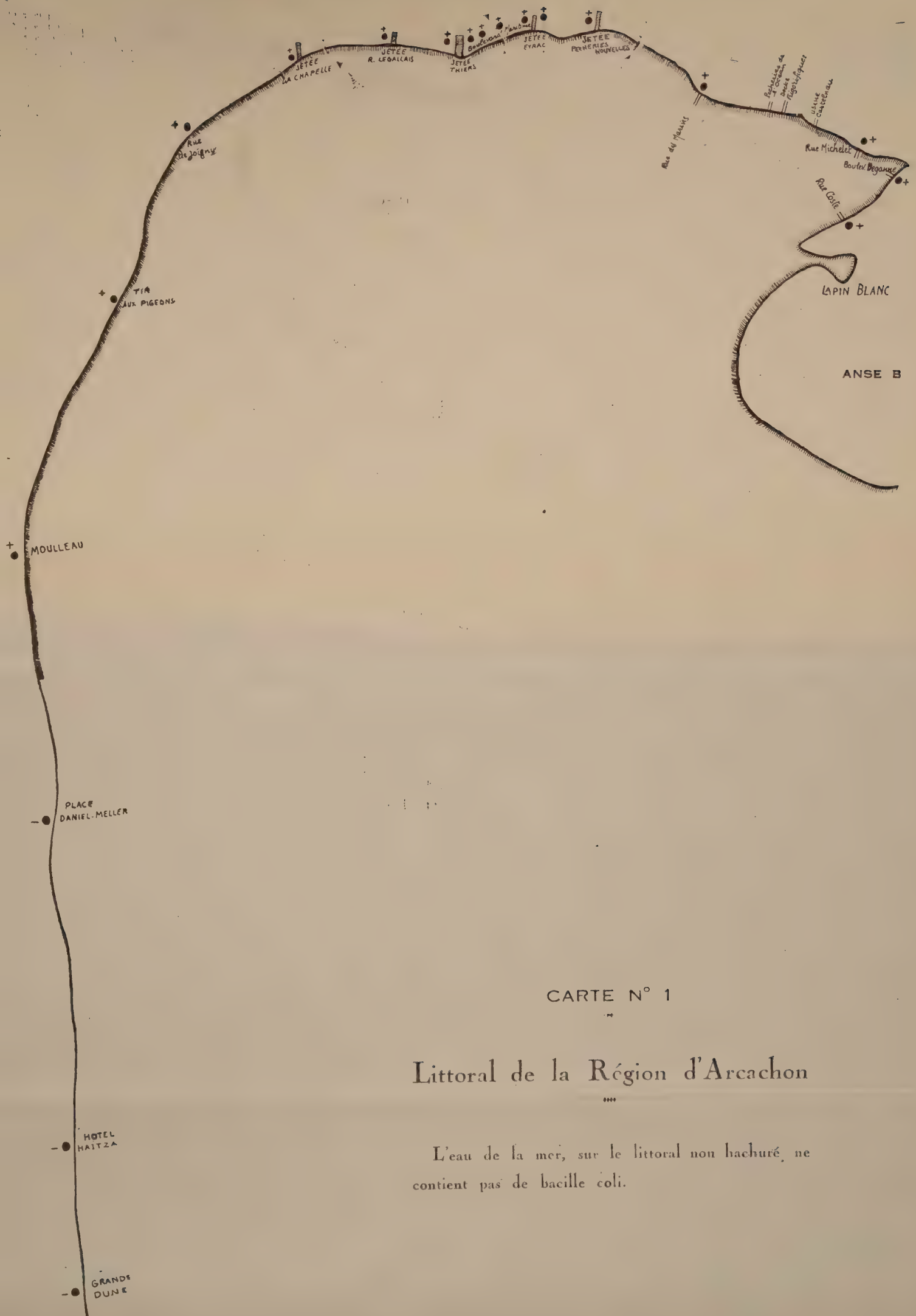
Skinner and Murrey.— Medium for inhibition of spreders and diferentiation of *B. coli* and *B. aerogenes*, *Journ. Inf. Dis.*, 1924.

Société scientifique d'Arcachon. Documents sur Arcachon.

— Ostréiculture (Documents et rapports).

Teague. — A new culture medium for the isolation of *B. typhosus* from stools. *Journ. Inf. Dis.*, t. XVIII, 1916.

Thoulet. — L'Océanographie.



CARTE N° 1

Littoral de la Région d'Arcachon

L'eau de la mer, sur le littoral non hachuré, ne contient pas de bacille coli.

BASSIN D'ARCACHON

D'APRÈS

LE CADASTRE OSTRÉÏCOLE

SANGLA
DIQUEY
PIRAILLAN
LE CANON
L'HERBE
VILLA ALGERIENNE
LA VIGNE
CHENAL D'ARÈS
CHENAL DE PIQUEY
CHENAL DE L'ÎLE
CHENAL DE CARRET
CHENAL D'ANDERNOS
CHENAL DE MOUCHTALETTE
ILE AUX OISEAUX
CHENAL DE GIROUASSE
CHENAL DU FOURCANT
CHENAL DU COURBEY
GRAND BANC
BANCOT
BANC BLANC
BANCS DE BERNET
CHENAL DU TEYCHAN
CHENAL DU PASSANT
CHENAL DE GUJAN
ARCACHON